

**BIOCHEMISCHE, VERHALTENS BIOLOGISCHE UND
ELEKTROPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUM OLFAKTORISCH GESTEUERTEN BEUTEFANG
DER URODELEN**

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
– Dr. rer. nat. –

dem Fachbereich Biologie/Chemie der
Universität Bremen
vorgelegt

von
Rainer Becker
aus
Verden

1985

**BIOCHEMISCHE, VERHALTENSBIOLOGISCHE UND ELEKTROPHYSIOLOGISCHE
UNTERSUCHUNGEN ZUM OLFAKTORISCH GESTEUERTEN BEUTEFANG
DER URODELEN**

DISSERTATION

**zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften**

- Dr. rer. nat. -

dem Fachbereich Biologie/Chemie der

Universität Bremen

vorgelegt

von

Rainer Becker

aus

Verden

I.	EINLEITUNG	1
1.1	Allgemeiner Teil	1
1.1.1	Chemische Analyse von Beutegerüchen	4
1.1.2	Versuchstiere	6
1.1.3	Lernen von Beutegerüchen bei Amphibien	7
1.1.4	Richtungswahrnehmung von Geruchsreizen	8
1.1.5	Elektrophysiologie des olfaktorischen Systems	10
II.	MATERIAL UND METHODE	15
2.1	Analytik	15
2.1.1	Gaschromatograph	16
2.1.2	Massenspektrometer	17
2.1.3	Proben	17
2.2	Verhaltensversuche	18
2.2.1	Versuchstiere	18
2.2.2	Versuchsdurchführung	19
2.3	Elektrophysiologie	21
2.3.1	Versuchstiere	21
2.3.2	Versuchsdurchführung	21
2.3.3	Olfaktometer und Versuchseinrichtung	22
III.	RESULTATE	24
3.1	Gaschromatographische/massenspektrometrische Untersuchungen	24
3.1.1	GC-Analyse	24
3.1.2	MS-Analyse	26
3.1.3	Aldehyd-Nachweis durch Reaktion mit Natriumhydrogensulfid	35

3.2	GC-Analysen / Ermittlung der Verhaltenswirk- samkeiten	36
3.2.1	Verhaltenswirksamkeit der Proben	36
3.2.2	GC-Analyse der Extrakt-Proben	38
3.3	Mathematische Analyse der Peakmuster	39
3.4	Versuche mit schwach verändertem Beutegeruch ..	42
3.4.1	Verhaltensversuche	42
3.4.2	GC-Analyse	44
3.5	Versuche zum Lernverhalten	46
3.5.1	Versuche mit Mehlwurmgeruch	46
3.5.2	Untersuchung der Verhaltensreaktion gegenüber unterschiedlichen Beutegerüchen bei Tieren im Alter von drei Jahren	47
3.6	Versuche zur olfaktorischen Orientierung	49
3.6.1	Orientierung im Nahbereich der Beute	49
3.6.2	Orientierung bei größerer Beuteentfernung	53
3.6.3	Versuche mit einem monorhinalen Versuchstier ..	53
3.7	Elektrophysiologische Untersuchungen	58
3.7.1	Antworthäufigkeiten bei ipsi- und kontra- lateraler Reizung	58
3.7.2	Antworttypen	60
3.7.3	Antwortintensitäten	63
3.7.4	Antwortmuster	65
3.7.5	Kontralaterale Einflüsse	69
IV.	DISKUSSION	76
4.1	Biochemische Untersuchungen	76
4.1.1	Vergleich mit den Ergebnissen v. Shinn u. Dole	85

4.2	Verhaltensbiologische Untersuchungen	87
4.2.1	Lernverhalten / Geruchsprägung	87
4.2.2	Allgemeine Betrachtung zum Lernen von Geruchsreizen	90
4.3	Orientierungsverhalten	93
4.3.1	Vergleich mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen	98
4.3.2	Abschließende Betrachtung	100
4.4	Elektrophysiologie	104
4.4.1	Ipsilaterale Antworten	105
4.4.2	Kontralaterale Antworten	110
V.	ZUSAMMENFASSUNG	114
VI.	LITERATUR	117

I. EINLEITUNG

1.1 ALLGEMEINER TEIL

Die sinnes- und verhaltensphysiologischen Arbeiten der letzten Jahrzehnte konzentrierten sich im Wesentlichen auf die Untersuchung der visuellen und mechanischen Sinnesfunktionen. Die chemischen Sinne - Geruch und Geschmack - sind dagegen weit weniger detailliert untersucht worden. Dieses über lange Zeit mangelnde Interesse an einer eingehenden Untersuchung insbesondere der olfaktorischen Funktionen hat mehrere Gründe: Zum einen dominieren beim Menschen im Gegensatz zu den meisten anderen Säugern die anderen Sinnesorgane, insbesondere der Gesichtssinn, wodurch sich das Interesse fast zwangsläufig hierauf konzentriert. Zum anderen sind Untersuchungen der olfaktorischen Funktionen unter genau definierten Bedingungen schwierig. So ist es bisher nicht gelungen, die Vielfalt der Geruchsreize in ein System einzuteilen, bei dem die sensorischen Eindrücke mit den chemisch-physikalischen Eigenschaften in jedem Fall übereinstimmen. Alle Versuche hierzu müssen mehr oder weniger willkürlich bleiben, da einerseits eine Einteilung nach chemisch-physikalischen Kriterien häufig nicht möglich ist - z.B. aufgrund der Tatsache, daß Verbindungen mit ähnlichen chemischen Strukturen unterschiedlich riechen können, und Geruchsstoffe mit unterschiedlichem chemischen Aufbau gleiche oder ähnliche sensorische Eindrücke hervorrufen können (s. hz. MacLeod, 1980). Andererseits ist eine Einteilung von Duftklassen wegen des Fehlens eindeutiger Kriterien stark vom persönlichen Empfinden von Experimentatoren und Versuchspersonen abhängig, wodurch nahezu beliebige Klassifizierungen zustande kommen können. Trotzdem sprechen einige Gründe für eine Einteilung in eine begrenzte Anzahl von Geruchsklassen. Diese kann z.B. nach der sterischen Anordnung der Moleküle erfolgen (Amoore, 1964). Hier sind dennoch viele Fragen offen.

In bezug auf die Funktionsweise und die biologische Bedeutung des Geruchssinnes gibt es in den letzten Jahren jedoch eine zunehmende Anzahl von Erkenntnissen, die darauf hinwei-

sen, daß dieser, bei allen hierauf untersuchten Wirbeltieren - einschließlich des Menschen - außerordentlich empfindlich und hoch differenziert ist und eine bedeutende Rolle in vielen Verhaltenszusammenhängen spielt. Dies gilt in besonderem Maße für die beiden grundlegenden Funktionen tierischer Organismen - Nahrungsaufnahme und Fortpflanzung - aber auch für den Bereich sozialer und territorialer Verhaltensweisen. Gerade hier scheinen Geruchsreize außerordentlich häufig als Informationsträger zur Regelung inner- und zwischenartlicher Beziehung eingesetzt zu werden (Übersicht bei Stoddart, 1980). Die vielleicht interessantesten Beispiele olfaktorischer Verhaltenssteuerungen finden sich jedoch auf dem Gebiet der geruchlichen Orientierung im Raum und im Bereich des Heimfindeverhaltens. Die olfaktorische Grundlage der Wanderungsbewegungen von Lachsen ist eine seit längerer Zeit bekannte Tatsache (Whisby und Hasler, 1954; Übersicht s. Stabell, 1984). Ebenso müssen in diesem Zusammenhang die aufsehererregenden Befunde von Wallraff (1970) und insbesondere von Papi (1971, 1972; Zusammenfassung s. 1976, 1982a), hinsichtlich der geruchsabhängigen Heimorientierung von Tauben genannt werden; ähnliches gilt offenbar auch für die Orientierung von Seeschildkröten (Lepidochelys kempi) (Grassman et al., 1984).

Die chemische Grundlage derartiger Orientierungsformen ist bis heute nur unzureichend untersucht. Die hierbei auftretenden Geruchsreize sollten jedoch äußerst vielfältiger Natur sein und darüber hinaus in sehr niedrigen Konzentrationen vorliegen. Hieraus läßt sich auf zwei wichtige Eigenschaften des olfaktorischen Systems der Wirbeltiere schließen: Zum einen scheint allgemein ein hochentwickeltes Geruchsgedächtnis vorhanden zu sein, zum anderen sollte - aufgrund der hier gestellten Anforderungen - die Sensitivität und Selektivität des Geruchssinnes ein außerordentlich hohes Maß erreichen.

In der Tat ist die Empfindlichkeit des Geruchssinnes durchaus mit der anderer sensorischer Systeme gleichzusetzen. Die Befunde von Neuhaus (1956) an Hunden zeigen dies ebenso wie die von Teichmann (1959) an Aalen (Anguilla anguilla) erzielten Ergebnisse. Hier wurden in beiden Fällen Verhaltensreaktionen gegenüber Geruchsstoffen beobachtet, deren

Konzentrationen in Bereichen lagen, bei denen mit statistischer Wahrscheinlichkeit nur noch einige wenige Moleküle pro Sekunde auf je eine Rezeptorzelle auftreffen. Dies würde bedeuten, daß die Empfindlichkeit des Wirbeltiergeruchssinnes, ähnlich wie die des Gesichtssinnes, in der Nähe der absoluten Wahrnehmungsschwelle liegen kann. Der Geruchssinn - dies gilt auch für den Menschen - ist somit wesentlich empfindlicher als die besten verfügbaren Analysegeräte. Dabei muß betont werden, daß die chemisch-physikalischen Eigenschaften der zugrundeliegenden Rezeptorvorgänge bis heute nicht vollständig verstanden werden.

Die besondere Beziehung des Geruchssinnes zu Lern- und Gedächtnisleistungen ist seit längerer Zeit bekannt (s. hz. Lawless und Cain, 1975) und häufig literarisch verarbeitet worden (z. B. bei T. Wolfe, M. Proust). Zur Erklärung dieses Phänomens könnte eine Betrachtungsweise aus phylogenetischer Sicht interessant sein: So wird allgemein davon ausgegangen, daß sich die chemischen Sinne im Laufe der stammesgeschichtlichen Entwicklung bei den frühesten, aquatischen Chordaten vor den übrigen sensorischen Systemen entwickelten und diesen bis zum Übergang zur terrestrischen Lebensweise an Entwicklungshöhe und Bedeutung überlegen waren (s. hz. MacLeod, 1971). Dieser ursprüngliche Zustand wird teilweise bei den rezenten Cyclostomen beibehalten, deren größtmäßig bedeutendster Hirnabschnitt, das Vorderhirn, zum überwiegenden Teil als Riechhirn anzusehen ist. Bei den Amphibien ist jedoch schon eine Entwicklung angedeutet, in deren weiterem Verlauf das ursprüngliche Rhinencephalon mehr und mehr zum integrativen Zentrum aller Sinneseingänge wird (s. z.B. Gruber und Ambros, 1974; Northcutt, 1981), und an deren Ende die Ausbildung des Neocortex der höheren Wirbeltiere steht, der wahrscheinlich das am meisten lernfähige neuronale System darstellt. Diese Entwicklung hatte offenbar mehrere Gründe. So scheint die Funktionsweise des Geruchssinnes - neben der biologischen Bedeutung die dieser für viele Tiere hat - die Ausbildung corticaler Strukturen zu begünstigen. In der Tat nimmt der zentrale Teil des olfaktorischen Systems (Paläopallium der Amphibien, bzw. Paläocortex der höheren Vertebraten) in der

aufsteigenden Wirbeltierreihe zunehmend corticalen Charakter an. Viele verhaltensphysiologische und anatomische Befunde zeigen überdies, daß der Geruchssinn im Unterschied zu den übrigen Sinnen ein äußerst dynamisches System darstellt, dessen Funktionsweise stark von der wechselseitigen Steuerung zentripetaler und zentrifugaler Einflüsse abhängig ist, wobei die jeweilige Reizsituation, der hormonelle und nutritive Zustand, sowie die persönliche Erfahrungsgeschichte eines Tieres, neben genetischen Einflüssen, bestimmende Faktoren sind. Freeman und Schneider (1982) konnten bei EEG-Untersuchungen am Bulbus olfactorius von geruchskonditionierten Kaninchen nachweisen, daß das bei Geruchsreizung auftretende räumliche Aktivitätsmuster der Bulbusneurone weniger von dem jeweils verwendeten Geruch als vielmehr von dem Aktivitätsmuster des jeweils konditionierten Geruchs, - d.h. dessen Erwartung - abhängig war. Die Autoren schlossen hieraus, daß es schon im Bulbus olfactorius, also auf der Ebene der ersten synaptischen Verschaltung zum Entstehen olfaktorischer "search images" kommt. Nach Auffassung von Freeman (1983) entsprechen die hierbei zugrunde liegenden neuronalen Prozesse den Vorgängen, die sich in höheren Hirngebieten bei der Entstehung von Vorstellungen ("mental images") abspielen. Man kann daher auf Grund dieser und weiterer Untersuchungen Freemans (z.B. 1978a, b; 1979) die Funktionsweise des olfaktorischen Systems direkt mit der höherer Hirnzentren vergleichen und das olfaktorische System - wofür auch Eigenschaften des anatomischen Aufbaus sprechen (Shepherd, 1972; MacLeod, 1972) - als einfaches Modell neocorticaler Strukturen und Funktionen betrachten. Die Ursachen für diese besonderen Eigenschaften des Geruchssystems sind in den olfaktorischen Reizbedingungen zu vermuten, die - zumindest bei den Wirbeltieren - den Aufbau eines relativ unspezialisierten, lernfähigen (plastischen) Systems notwendig machen. Diese Sichtweise stellt einen zentralen Punkt der vorliegenden Untersuchung dar.

1.1.1 Chemische Analysen von Beutegerüchen

Ein erhebliches Problem bei der Untersuchung des Geruchssin-

nes liegt in der Komplexität der chemischen Zusammensetzung von Gerüchen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist weitgehend ungeklärt, wie die Einzelbestandteile komplexer Gerüche wahrgenommen werden, d.h. ob und wie die einzelnen Komponenten bei der Entstehung des sensorischen Gesamteindrucks interagieren.

Es liegt auf der Hand, daß diese Fragen auch bei der Untersuchung olfaktorisch induzierter Verhaltensweisen von Tieren von großem Interesse sind, da man annehmen kann, daß der überwiegende Teil der natürlich vorkommenden, verhaltensrelevanten Gerüche aus komplexen Gemischen verschiedenartiger Verbindungen besteht. Neben Nahrungs- bzw. Beutegerüchen zählen hierzu möglicherweise besonders Umgebungsgerüche, die der räumlichen Orientierung dienen, wobei gerade hier völlig ungeklärt ist, aufgrund welcher Merkmale die biologische Bedeutung derartiger Komplex-Gerüche entsteht.

Zur Klärung dieser Fragen scheinen chemische Analysen biologisch relevanter Geruchszusammensetzungen in Zusammenhang mit eingehenden Untersuchungen olfaktorisch gesteuerter Verhaltensweisen unerläßlich zu sein. Auch im Hinblick auf elektrophysiologische Untersuchungen, die sich etwa mit der Frage beschäftigen, wie Nervensysteme zwischen biologisch relevanten und "neutralen" Reizen unterscheiden, könnte die genaue Kenntnis der chemischen Beschaffenheit der verwendeten Stimuli von außerordentlichem Nutzen sein. Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeit befaßt sich daher mit der chemischen Analyse eines Beutegeruchs, wobei mit gaschromatographischen und massenspektrometrischen Untersuchungsmethoden gearbeitet wurde.

Chemische Analysen von Beutegerüchen sind in Zusammenhang mit dem Beutefangverhalten von Salamandern bisher nicht bekannt. In bezug auf eine ähnliche Fragestellung wurden jedoch zwei Analyseversuche von Geruchszusammensetzungen unternommen, die auch für Salamander als Beutegeruch in Frage kommen. Shinn und Dole (1979) untersuchten die Verhaltensreaktionen von Kröten (Bufo boreas), gegenüber einem Extrakt, der aus den Rückständen von Grillen, die über einen Zeitraum von 24 Stunden in einen Erlenmeyer-Kolben gebracht worden waren, gewonnen wurde. Der Extrakt, hergestellt durch

Spülen der Rückstände in einer Chloroform / Methanol-Lösung hatte nach Evaporation der Lösungsmittel eine deutlich nachweisbare Verhaltenswirksamkeit. Die Autoren vermuteten Lipide als aktive Bestandteile, begründeten dies aber lediglich mit der Art und Weise der Extrakterstellung (Ways und Hanahan, 1964). Diese bietet jedoch genaugenommen wenig Anhaltspunkte für die dort vertretene Auffassung (s.a. Diskussion). Eine weitergehende Analyse wurde hier nicht unternommen.

Sehr viel eingehender sind demgegenüber die von Reformato et al. (1983) und Halpern et al. (1984) durchgeführten Untersuchungen der verhaltensaktiven Komponenten im Geruch von Regenwürmern. Die Perzeption von Regenwurmgeruch ruft bei Thamnophis sirtalis eine Erhöhung der Züngelfrequenz, Annäherung an die Geruchsquelle und Schnappreaktionen hervor (Burghardt, 1966; Burghardt und Pruitt, 1977), wobei der Geruchsreiz offenbar allein über das vomeronasale System aufgenommen wird (Wilde, 1938; Burghardt und Pruitt, 1977; Halpern und Firmin, 1980). Halpern et al. (1984) konnten durch gelchromatographische Trennverfahren mehrere Komponenten aus wässrigen Lösungen der Oberflächenbestandteile von Regenwürmern isolieren, von denen jedoch nur eine mäßig verhaltenswirksam war. Diese wurde aufgrund weiterführender chemischer Analysen vorläufig als wasserlösliches, hochmolekulares Glykoprotein unbekannter Struktur charakterisiert. Vollständige, d.h. aus sämtlichen Komponenten bestehende Lösungen hatten eine etwas höhere Verhaltenswirksamkeit, jedoch war auch diese, verglichen mit der Wirksamkeit des originären Regenwurmgeruchs eher gering. So konnten nur in Ausnahmefällen Schnappreaktionen beobachtet werden; als Maß für die Attraktivität einer Probe wurde daher lediglich die Veränderung der Züngelfrequenz gewertet. Diese Untersuchung wirft eine Reihe von Fragen und Einwänden auf, die später, in Zusammenhang mit den Befunden der vorliegenden Arbeit, noch diskutiert werden sollen (s. Diskussion).

1.1.2 Versuchstiere

Neben der chemischen Analyse wurden verschiedene Versuchs-

reihen zum olfaktorisch induzierten Lern- und Orientierungsverhalten durchgeführt. In diesem Zusammenhang erscheinen einige Anmerkungen hinsichtlich der verwendeten Versuchstiere angebracht: Der verhaltensbiologische Teil der vorliegenden Untersuchung wurde an Feuersalamandern (Salamandra salamandra L.) durchgeführt. Dies hat mehrere Gründe: Unter den Amphibien scheinen gerade Urodelen besonders geeignete Versuchstiere für Untersuchungen geruchsabhängiger Verhaltensweisen zu sein, da ihr Verhalten in offenbar sämtlichen Funktionskreisen in erheblichem Maße olfaktorisch beeinflusst werden kann. So spielen Geruchsreize eine wichtige Rolle bei der Heimorientierung (Twitty, 1955; Grant et al. 1968; Madison und Shoop, 1969; Barthalmus und Bellis, 1972; Hershey und Forester, 1980), beim Fortpflanzungsverhalten (Madison, 1975; s. Arnold, 1977; Arnold und Houck 1982; Forester, 1979) und bei territorialen Verhaltensweisen (Tristram, 1977; Mc Gavin, 1978; Jaeger und Gergits, 1979). Auch das Beutefangverhalten ist offenbar bei vielen Salamanderarten in außerordentlich hohem Maße geruchsabhängig. Die Versuche von Matthes (1924 a, b, c), Himstedt (1967) und Margolis (1976; 1977) mit Trituriden zeigen dies ebenso wie die Untersuchungen von Becker (1980), Roth und Luthardt (1980), Luthardt und Roth (1983) an Feuersalamandern, sowie besonders die Arbeit Roths (1976) an Hydromantes italicus. Auch für Plethodon cinereus (David und Jaeger, 1981) und Ambystoma tigrinum (Nicholas, 1922; Lindquist und Bachmann, 1982) wurde die Fähigkeit zum olfaktorischen Beutefang nachgewiesen. Salamander erscheinen daher als besonders geeignete Untersuchungsobjekte in Hinsicht auf geruchsgesteuerte Verhaltensweisen.

1.1.3 Lernen von Beutegerüchen bei Amphibien

Die Verhaltensreaktionen gegenüber Beutegeruch scheinen bei Amphibien in besonderem Maße erfahrungsabhängig zu sein. So zeigten Kröten (Bufo boreas) bei den Versuchen von Dole et al. (1981) schon nach einmaliger Erfahrung mit vorher nicht bekannter Beute signifikante Verhaltensveränderungen gegenüber dem Geruch dieser Beute. Becker (1980) konnte bei

Verhaltensversuchen mit juvenilen Feuersalamandern (Salamandra salamandra) nachweisen, daß die Beutefangreaktion gegenüber dem Geruch von Grillen (Gryllus bimaculatus) nicht angeboren sind, sondern gelernt werden. Die Ergebnisse der Versuche von David und Jaeger (1981) an Plethodon cinereus weisen in die gleiche Richtung. Hier konnte gezeigt werden, daß der visuelle Reiz einer unbewegten Beute für die Beutererkennung unwesentlich ist, die Identifikation der Beute also olfaktorisch erfolgt (s. hz. a. Luthardt und Roth; 1983). Aus der Tatsache, daß die Beutefangrate gegenüber unbewegter Beute nach Erfahrung mit bewegter Beute desselben Typs erhöht war, schlossen die Autoren, daß die Identifikation von Beutegerüchen bei Salamandern erfahrungsabhängig sein kann.

In der vorliegenden Arbeit wurden zur Untersuchung des Lernverhaltens gegenüber Beutegeruch zwei Experimente durchgeführt: 1. Es wurde untersucht, wie Salamander im Alter von ca. einem Jahr, die nach der Metamorphose nur Beute eines bestimmten Typs gefressen hatten, auf den Geruch einer unbekannten Beute reagierten. 2. Bei einem ähnlichen Versuchsansatz waren die verwendeten Versuchstiere wesentlich älter (ca. 3 Jahre) und hatten daher eine erheblich längere Erfahrung mit dem Geruch einer bestimmten Beute. Hier wurden die Verhaltensreaktionen gegenüber dem Geruch einer unbekannten Beute vor und nach visueller Erfahrung mit der neuen Beute untersucht. Hierbei ging es auch um die Frage der Abhängigkeit olfaktorisch induzierter Lernvorgänge von Lernphasen.

1.1.4 Richtungswahrnehmung von Geruchsreizen

Die Ortung chemischer Reizquellen stellt ein besonderes Problem geruchsgelenkter Verhaltensweisen dar. Mehrere Mechanismen zur Richtungserkennung sind hier möglich: Beim Fehlen paariger Sinnesorgane oder nach einseitiger Deafferentierung erfolgt die Orientierung häufig klinotaktisch. Hierbei erkundet ein Tier auf der Suche nach der Reizquelle durch Bewegungen des Kopfes oder Körpers die Richtung des Konzentrationsgradienten. Bei Vorhandensein paariger Riech-

organe könnten Intensitäts- und Laufzeitdifferenzen zwischen beiden Seiten zur Richtungserkennung dienen. So fand von Békésy (1964) bei psychophysischen Versuchen mit menschlichen Versuchspersonen, daß es bei einer optimalen zeitlichen Verzögerung (ca. 1 msec.) des Reizeintritts zwischen rechter und linker Seite möglich ist, zwischen beiden Seiten zu unterscheiden, d.h. eine Richtungswahrnehmung in Bezug auf die zuerst gereizte Seite zu haben. Auch auf Grund von Konzentrationsunterschieden zwischen rechter und linker Seite kann eine Richtungserkennung zustande kommen, die Unterschiede müssen jedoch erheblich sein, und der Effekt ist insgesamt weniger ausgeprägt als bei Auftreten zeitlicher Differenzen (von Békésy, 1964). Auffallend ist, daß bei einer rein unilateralen Stimulation nicht zwischen gereizter und ungereizter Seite unterschieden werden kann (v. Skramlik, 1925).

Levéteau und MacLeod (1969b, c) fanden bei Ableitungen glomerulärer Potentiale aus dem Bulbus olfactorius von Kaninchen bei bilateraler, zeitlich verzögerter Reizung eine Inhibition der später gereizten Seite, die im Bereich von ca. 3 msec. eine maximale Größe hatte. Die Ergebnisse dieser elektrophysiologischen Untersuchungen bilden ein direktes neurophysiologisches Korrelat der Befunde von Békésy's. Auch hier war der Effekt von Konzentrationsunterschieden im Vergleich zu zeitlichen Verzögerungen deutlich geringer ausgeprägt. Diese Befunde weisen somit auf die Möglichkeit einer auf der Wahrnehmung von zeitlichen rechts-links Unterschieden begründeten Orientierung gegenüber Geruchsreizen hin (s. hz. a. Diskussion).

Dieser Orientierungsmechanismus versagt jedoch anscheinend bei größerer Entfernung oder wenn das Medium, in dem sich das Duftfeld befindet, stärkeren Strömungen oder Verwirbelungen ausgesetzt ist. Hier wird dann oft einfach eine Bewegungsrichtung entgegen der jeweiligen Luft- oder Wasserströmung gewählt. Insbesondere bei Insekten und Fischen scheint diese Art der olfaktorischen Orientierung häufig zu sein (s. hz. Fraenkel und Gunn, 1961). Dies ist z.B. der Verhaltensmechanismus, mit dem sich Lachse bei ihren Laichwanderungen orientieren (Hasler, 1966). Die gleiche Verhaltensweise wurde sowohl bei anderen Süß- als auch Salzwasser-

fischen gefunden. Hier wurde die Reizquelle immer dann verfehlt, wenn keine Strömungen vorhanden waren (Kleerekoper, 1967).

In bezug auf das Orientierungsverhalten von Amphibien gibt es kaum systematischen Untersuchungen (Ausnahmen s. Diskussion). So ist die Orientierungsweise von Amphibien gegenüber dem Umgebungsgeruch in Zusammenhang mit dem Heimfindverhalten nicht geklärt. Die gilt mit Einschränkung auch für die Orientierung gegenüber Beutegeruch. In beiden Verhaltenszusammenhängen scheint jedoch das Erkennen der Richtung und damit die exakte Lokalisation der Geruchsquelle unerlässlich zu sein. Die räumliche Wahrnehmung von Gerüchen könnte jedoch bei einigen Amphibienarten besonders hoch entwickelt sein, wie die Befunde von Roth (1976) an Hydromantes italicus zeigen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich daher zur weiteren Untersuchung dieses Problems in zwei Versuchsreihen mit dem Orientierungsverhalten von Salamandern gegenüber einer Beutegeruchsquelle. Im Wesentlichen ging es dabei um die Art und Weise der Lokalisation einer Reizquelle in Abhängigkeit von der Reizsituation.

1.1.5 Elektrophysiologie des olfaktorischen Systems

Ein weiterer Teil der vorliegenden Arbeit waren die elektrophysiologischen Untersuchungen.

Seit den Arbeiten Adrians (1950, 1953) wurden zahlreiche Untersuchungen der Antworteigenschaften von Einzelzellen im Bulbus olfactorius verschiedener Tierarten aus mehreren Wirbeltierklassen durchgeführt. Einige wichtige Arbeiten seien hier genannt:

Bisher wurden an Fischen (Hara, 1967; Döving et al., 1974; Bodznick, 1978), Amphibien (Shibuya et al., 1962; Döving, 1963, 1966a,b; 1966b,c; Kauer, 1974; Kauer und Sheperd, 1977; Higashino et al., 1969; Kauer & Moulton, 1974; Duchamp, 1982), Reptilien (Mathews, 1972a;) und an Säugtieren (Walsh, 1955; Chaput und Holley, 1980; Mathews, 1972b; Mancía et al., 1962; Macrides und Chorover, 1972; Mair, 1982a) Ableitungen neuronaler Potentiale auf dem Einzelzellniveau vorgenommen. Die Ergebnisse all dieser Unter-

suchungen stimmen - soweit vergleichbar - im Wesentlichen mit den von Kauer (1974) an Ambystoma tigrinum und Rana pipiens erzielten Resultaten überein. Danach antworten Bulbus-Neurone bei Geruchsreizung entweder mit exzitatorischen oder mit inhibitorischen Entladungsmustern, wobei im letzteren Falle die stets vorhandene Spontanaktivität gehemmt wird. Exzitatorische und inhibitorische Antworten lassen sich, der Einteilung Kauers (1974) folgend, in fünf Antwortgruppen aufteilen. Im Einzelnen sind dies: Drei exzitatorische Antworttypen, die von Kauer als E_1 = (rein exzitatorisch), E_2 = (Exzititation gefolgt von Inhibition), und E_3 = (Exzititation gefolgt von Inhibition gefolgt von Exzititation) bezeichnet wurden, und 2 inhibitorische Typen, die Kauer S_1 = (rein inhibitorisch) und S_2 = (Inhibition gefolgt von Exzititation) nannte. Diese begrenzte Anzahl von Antworttypen wurde, soweit sich die verschiedenen Untersuchungen vergleichen lassen, bei allen bisher untersuchten Tieren unter Verwendung unterschiedlichster Geruchsstoffe und unter allen Konzentrationsverhältnissen beobachtet (vgl. hz. a. Mair, 1982).

Aus der Tatsache, daß der Antworttyp E_1 bei steigender Konzentration in E_2 und E_3 überging, schloß Kauer (1974), daß es nur einen exzitatorischen Grundtyp gäbe, dessen Antwortmuster bei steigender Duftstoffkonzentration mehr und mehr von inhibitorischen Anteilen überlagert würde (vgl. hz. a. Kauer und Shepherd, 1975). Die inhibitorischen Antworttypen S_1 und S_2 wurden durch unterschiedliche Geruchskonzentrationen kaum beeinflusst, d.h. eine Zelle, die auf einen bestimmten Geruchsreiz inhibitorisch reagierte, tat dies über den gesamten Konzentrationsbereich, so daß es zwischen exzitatorischen und inhibitorischen Typen bei gegebenem Duftstoff keine Überschneidung gab. Nach Kauers (1974) Ansicht würde dies bedeuten, daß die exzitatorischen Antworttypen sowohl Konzentration als auch Geruchsqualität codieren, während die suppressiven Typen eine Art gehemmtes Umfeld bilden.

Ein weiteres wichtiges Ergebnis war, daß jede Zelle - in Abhängigkeit von dem jeweils verwendeten Geruchsstoff und der jeweiligen gegebenen Konzentration - jedes Antwort-

muster zeigen kann. Die Häufigkeit bestimmter Antwortmuster scheint hierbei nicht an bestimmte Geruchsstoffe gebunden zu sein. Kauer (1974) schreibt hierzu: "There did not seem to be any predilection for certain response types to occur with some odours more often than with others", und schließt weiter aus den erwähnten Ergebnissen, daß Geruchqualitäten in räumlichen, nicht aber in zeitlichen Erregungsmustern codiert würden, da im letzteren Falle andere, d.h. komplexere Antworttypen zu erwarten seien.

Die Untersuchungen von Kauer (1974) wurden ebenso wie fast alle übrigen erwähnten Arbeiten bei unilateraler Reizung der Bulbus-Neurone durchgeführt. Seit längerem ist jedoch sowohl bei Säugetieren als auch bei Amphibien und Reptilien die Existenz interbulbarer Faserverbindungen belegt. Diese ziehen bei den Mammaliern als Projektionen 3. Ordnung über die anteriore Kommissur zum kontralateralen Bulbus (Broadwell, 1975; de Olmos et al., 1978; Mori et al., 1979) und weisen eine topographische Anordnung auf (Haberly und Price, 1978; Schoenfeld und Macrides, 1984). Bei Amphibien und Reptilien verlaufen die interbulbaren Verbindungen dagegen als sekundäre Projektionen über die Commissura habenulae zur kontralateralen Seite (Herrick, 1924; Northcutt und Royce, 1975; Scalia et al., 1969; Ulinski und Peterson, 1981). Über eine mögliche topographische Organisation ist hier nichts bekannt.

Elektrophysiologische Untersuchungen an unterschiedlichen Wirbeltierarten zeigten beträchtliche Veränderungen der elektrischen Aktivität des ipsilateralen Bulbus nach kontralateraler elektrischer Reizung (Kerr und Hagbarth, 1955; Walsh, 1959; Orrego, 1962; Callens und Boisaq-Schepens, 1963; Döving und Gemne, 1966; Döving, 1966c). Die kontralateralen Einfüsse sind dabei überwiegend inhibitorischer Art. Döving (1966c) fand bei Ableitungen an sekundären Neuronen des olfaktorischen Systems von Quappen (Lota lota (L.)) nach elektrischer Stimulation des kontralateralen olfaktorischen Traktes, daß 35 % der untersuchten Zellen exzitatorisch antworteten, bei 60 % wurde die Spontanaktivität gehemmt und 5 % zeigten eine indifferente Antwortcharakteristik. Obwohl das olfaktorische System der Fische in mancher Bezie-

hung von dem der übrigen Wirbeltiere abweicht (s. hz. Sheldon, 1912), befinden sich diese Ergebnisse in relativ guter Übereinstimmung mit den Befunden der übrigen Autoren. Döving und Gemne (1966) vermuteten in der Interaktion der olfaktorischen Bulbi einen Mechanismus zur Erhöhung der Unterscheidungsfähigkeit gegenüber unterschiedlichen Geruchsqualitäten, begründeten diese Auffassung jedoch nicht weiter. Die in jüngster Zeit bei Säugern festgestellte topographische Anordnung (s.o.) der kontralateralen Projektionen unterstützt jedoch diese Ansicht.

In jedem Falle ist die normale olfaktorische Reizsituation bilateral, d.h. die Aktivitätsmuster der sekundären Neurone beider Bulbi sollten einer wechselseitigen Beeinflussung unterliegen, deren Auswirkung auf das Antwortverhalten der Bulbus-Neurone bei unilateraler Stimulation und gleichzeitiger ipsilateraler Ableitung nicht sichtbar wird. Systematische Vergleiche ipsi-, kontra- und bilateraler Antworten von Einzelzellen im Bulbus olfactorius bei Reizung mit Geruch wurden bisher kaum unternommen. Mancina et al. (1962) stellten bei abwechselnder Geruchsreizung der beiden Nares von Kaninchen reziproke Auswirkungen auf das Antwortverhalten von Einzelzellen im Bulbus olfactorius fest (s. hz. a. Green, 1961). Döving und Hyvärinen (1969) fanden bei abwechselnder ipsi- oder kontralateraler Geruchsreizung der Riechepithelia von Quappen (Lota lota (L.)) bei einigen Zellen ähnliche Effekte, wobei der kontralaterale Einfluß alle möglichen Stufen zwischen Hemmung und Erregung einnehmen konnte. In den meisten Fällen waren jedoch hinsichtlich der Antwortcharakteristik keine Unterschiede zwischen ipsi- und kontralateraler Stimulation zu beobachten gewesen. Ein Vergleich der ipsi- und kontralateralen Antwortcharakteristik mit den bilateralen Antworten fehlt in den beiden oben angeführten Untersuchungen. Der elektrophysiologische Teil der vorliegenden Arbeit hatte daher im Wesentlichen das Ziel, die Antworteigenschaften sekundärer Neurone im Bulbus olfactorius von bei ipsi-, kontra- und bilateraler Reizung zu untersuchen und miteinander zu vergleichen. Die Geruchsreizungen erfolgten hierbei überwiegend mit verhaltensrelevanten Stimuli (s. Material u. Methode). Bei

Säugetern und Fischen ist die Beeinflussung der Antworteigenschaften von Mitralzellen in Abhängigkeit von der biologischen Bedeutung eines Geruchs durch eine Reihe von Untersuchungen nachgewiesen. Macrides und Chorover (1972) stellten bei Einzelzellableitungen am olfaktorischen System von Rodentieren die stärksten stimulusspezifischen Veränderungen der Antwortmuster bei Verwendung "ethologisch relevanter" Stimuli fest. Bodznick (1978) fand im olfaktorischen Bulbus von Lachsen (Teleostei, Salmonidae) Gruppen von Zellen, die offenbar spezifisch auf den Geruch von Laichgewässern antworteten (s. hz. a. Döving et al., 1974). Auch durch Summenableitungen vom Bulbus olfactorius konnte bei Ratten nachgewiesen werden, daß die bei Geruchsreizung auftretenden unterschiedlichen Antwortmuster der Bulbus-Neurone mit deren biologischer Bedeutung korreliert waren (Cattarelli, Pager und Chanel, 1977; Cattarelli und Chanel, 1979). Dies könnte bedeuten, daß die biologische Relevanz von Geruchsreizen bereits in den Antwortmustern der sekundären Neurone des Geruchssystems in besonderer Weise zum Ausdruck kommt (s. hz. a. die im allgemeinen Teil der Einleitung erwähnten Befunde Freemans). Ein Vergleich der Antworten von Bulbus-Neuronen bei Reizung durch Stimuli mit und ohne biologische Bedeutung ist daher interessant. Dies war ein weiterer Punkt des elektrophysiologischen Teils der vorliegenden Untersuchung.

II. MATERIAL UND METHODE

2.1 ANALYTIK

Die chemische Analyse von Grillengeruch wurde mit einer Kombination gaschromatographischer und massenspektrometrischer Untersuchungsmethoden durchgeführt.

Bei der gaschromatographischen Analyse wird ein zu untersuchendes gasförmiges Substanzgemisch (mobile Phase) durch eine Trennsäule geschickt, deren Füllmaterial (stationäre Phase) mit den im Gemisch vorhandenen Verbindungen in physikalische Wechselwirkung tritt. Die unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften der Verbindungen eines Gemischs bedingen unterschiedlich starke Affinitäten gegenüber der stationären Phase, wodurch die Verweildauer einer Verbindung auf der Trennsäule unter gegebenen Bedingungen festgelegt wird. In der Praxis werden durch diesen Prozess Substanzgemische während eines Analyseanges aufgetrennt, d.h. in ihre Einzel-Komponenten zerlegt, die nacheinander am Säulenende erscheinen und hier mit Hilfe eines geeigneten Detektors als Signale auf einem Papierstreifen registriert werden können. Die so entstehenden Chromatogramme stellen eine Art "Fingerabdruck" des untersuchten Gemischs dar, über die chemische Beschaffenheit der Einzel-Komponenten wird jedoch hier noch wenig ausgesagt.

Für die weiterführende Analyse des chemischen Aufbaus der Einzel-Komponenten wurde die Massenspektrometrie gewählt, deren Prinzip auf der unterschiedlich starken Ablenkung von Molekül-Ionen - bzw. deren Bruchstücken - in einem Magnetfeld beruht. Hierbei entscheidet das Masse/Ladungsverhältnis über den Grad der Ablenkung. Zur Durchführung von Analysen werden die zu untersuchenden Moleküle durch Beschuß mit energiereichen Elektronen in positiv geladene Molekül-Ionen bzw. Molekül-Fragmente umgewandelt. In einem elektrischen Feld werden die Ionen beschleunigt, zu einem feinen Strahl gebündelt und durch ein Magnetfeld geschickt. Je nach Masse/Ladungsverhältnis erfolgt hier eine unterschiedlich starke Ablenkung der Ionen und Bruchstücke, die von geeigneten Detektoren registriert wird. Die zu einer Verbindung gehö-

renden Massenpeaks werden auf einen Papierstreifen aufgezeichnet und bilden hierbei ein für jede Verbindung charakteristisches Spektrum aus.

Bei der vorliegenden Untersuchung wurde das Säulenende der Trennsäule eines Gaschromatographen mit dem Einlaßsystem eines Massenspektrometers gekoppelt. Auf diese Weise ist es möglich, die am Säulenausgang erscheinenden Verbindungen direkt massenspektrometrisch zu untersuchen. Die so erhaltenen Spektren lassen sich den Peaks des entsprechenden Chromatogramms zuordnen und ermöglichen - etwa durch Vergleich mit Spektren in Spektrendateien - Rückschlüsse auf deren chemische Natur.

Folgende Geräte und Methoden wurden verwendet:

2.1.1 Gaschromatograph

Die gaschromatographischen Analysen wurden mit einem F-22 Gaschromatographen (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) durchgeführt. Das Gerät war mit einem HS 6 Dampfrauminjektor (P/E) zur Probenentnahme aus dem Dampfraum über Flüssigkeiten oder festen Stoffen ausgerüstet (s. z. B. Hachenberg und Schmidt, 1977; Kolb, 1980). Das zu untersuchende Probenmaterial wurde in 5 ml Glasröhrchen eingefüllt, die durch ein Kunststoffseptum und eine Bürdelkappe fest verschlossen werden konnten. Nach Erhitzen der Probe auf 130° und einer Equilibrierungszeit von 15 min wurden durch eine Injektionsnadel Proben aus dem Dampfraum über dem Probenmaterial gezogen und direkt auf die Trennsäule gegeben. Die Injektionsdauer betrug hierbei 3,5 sec. Als Trennsäule wurde eine 25 m WCOT-fused silica Kapillarsäule des Typs OV 101 (P/E) verwendet, deren Innendurchmesser 0,25 mm betrug. Die Säulentemperatur wurde anfangs für 4 min. auf 30° gehalten und dann in Schritten von 10°/min. auf 240° aufgeheizt. Die Injektor- und Detektortemperatur betrug 250°. Als Trägergas wurde hochreiner Stickstoff verwendet. Die Einzelpeaks der Proben wurden durch einen Flammenionisationsdetektor registriert und über einen Integrator und einen hieran angeschlossenen

Schreiber aufgezeichnet.

2.1.2 Massenspektrometer

Die massenspektrometrische Analyse wurde mit einem Varian Massenspektrometer (Varian Mat CH 7 A) durchgeführt. Die Aufzeichnung der Massenspektren erfolgte unter den folgenden Bedingungen: Die Ionenquellentemperatur betrug 200°. Die Temperatur am Interface war 270°. Bei der Ionisation wurden die international üblichen 70 eV verwendet. Das Einlaßsystem bildete, wie erwähnt, der F-22 Gaschromatograph. Die Registrierung der Spektren erfolgte über das Datensystem SS 100 (Varian Mat) unter zyklischen Scan-Bedingungen. Hierbei wurden 16 Spektren pro Minute aufgezeichnet.

2.1.3 Proben

Als Probenmaterial wurde verwendet:

1. gereinigtes Filterpapier, das mindestens eine Woche in Grillenzuchtkästen gelegen hatte. (Stücke des so behandelten Filterpapiers hatten sich in Verhaltenstests mit Salamandern als sehr effektiver olfaktorischer Stimulus für die Auslösung von Schnappreaktionen erwiesen.)
2. Durch chemische Behandlung von Grillen hergestellte Geruchsextrakte. Zur Herstellung dieser Extrakte wurden Grillen durch Tiefgefrieren abgetötet und nach anschließendem Wiederauftauen für 5 min. in einem organischen Lösungsmittel gespült. Als Lösungsmittel dienten Methylenchlorid, Diethylether und Hexan und in einem Fall eine Mischung aus Methylenchlorid und Diethylether, wobei nur die höchsten verfügbaren Reinheitsstufen (Uvasol, Spectranal) verwendet wurden. Nach vorsichtigem Verdampfen des Lösungsmittels wurden die so erhaltenen Extrakte ebenso wie Stücke des "Grillen"-Filterpapiers in der beschriebenen Weise gaschromatographisch untersucht.

Das gaschromatographisch und verhaltensbiologisch zu untersuchende Probenmaterial der Versuche mit schwach verändertem

Beutegeruch (s. Kap. 3.4) wurde in ähnlicher Weise gewonnen wie die o.a. Proben. Der Unterschied zu den übrigen Versuchen bestand darin, daß die hierbei verwendeten Grillen unter veränderten Bedingungen gehalten wurden. Insbesondere das Futter wurde wie folgt verändert: Während normal aufgezogene Grillen eine Mischung aus Matzinger- Hundeflocken und Nagetier-Preßfutter erhielten, bekamen die für diese Versuche verwendeten Grillen eine Nahrung, die überwiegend aus Küchenabfällen (Obstschalen, Brot- und Kartoffelreste etc.) bestand. Darüber hinaus waren die Haltungstemperaturen hier höher als bei normal aufgezogenen Grillen.

2.2 VERHALTENSVERSUCHE

2.2.1 Versuchstiere

Für die Untersuchung der Verhaltensreaktionen von Salamandern gegenüber dem gaschromatographischen Probenmaterial wurden 10 juvenile Feuersalamander (Salamandra salamandra (L.) im Alter von 3 Monaten nach der Metamorphose verwendet. Diese Tiere waren aus einer größeren Menge von Salamandern deshalb ausgewählt worden, da ihre mittlere Beutefangaktivität konstant bei ca. 90 % lag, d.h. innerhalb einer Versuchszeit von 20 min. schnappten durchschnittlich 9 von 10 Tieren nach der dargebotenen Beute. Die Versuchstiere waren vor Beginn der Versuche ausschließlich mit Grillen und nur im Dunkeln gefüttert worden. Nach jedem Verhaltensexperiment wurde die Beutefangaktivität durch Fütterung mit einer frisch toten Grille unter den o.a. Bedingungen getestet. Es zeigte sich, daß die erwähnte, hohe Beutefangaktivität von ca. 90 % über die gesamte Dauer der Versuche erhalten blieb.

Die Versuche zum Lernverhalten und Unterscheidungsvermögen wurden mit jeweils 8 juvenilen Feuersalamandern im Alter von ca. 1 Jahr nach der Metamorphose durchgeführt. Die Versuchstiere waren bis zum Beginn der Versuche, ebenso wie die vorher erwähnte Versuchsgruppe, nur mit Grillen und nur im Dunkeln gefüttert worden.

Bei den Versuchen zur olfaktorischen Prägung und zum olfaktorisch gesteuerten Orientierungsverhalten wurden 7 bzw. 8 Feuersalamander verwendet, die ca. 3 bzw. 3 - 4 Jahre alt waren. Hierzu war die eine Versuchsgruppe (olfakt. Prägung) nur mit Regenwurmstücken gefüttert worden, während die übrigen Tiere (Orientierungsverhalten) Regenwürmer und Grillen erhalten hatten.

Alle Versuchstiere stammten aus eigener Laborzucht und wurden unter gleichbleibenden Bedingungen (18°C, Hell-Dunkel-Rhythmus : 16 zu 8 h) in Kunststoffbecken auf feuchtem Schaumstoff gehalten. Gefüttert wurden die Tiere je nach Alter 1 - 3 mal pro Woche mit Grillen bzw. Regenwurmstücken. Die Versuchstiere wurden ca. 14 Tage vor Beginn einer Versuchsreihe einzeln in 10 x 10 cm (drei Monate alte und einjährige Tiere) bzw. 20 x 20 cm (drei- und drei- bis vierjährige Tiere) große Plastikbehälter gesetzt, die mit feuchtem Schaumstoff (10 x 10 cm) oder feuchtem Fließpapier (20 x 20 cm) ausgelegt waren. Diese Plastikboxen dienten gleichzeitig als Versuchsbehälter. Eine Beunruhigung der Versuchstiere durch Anfassen, Umsetzen usw. bei Durchführung von Verhaltensexperimenten konnte so vermieden werden.

2.2.2 Versuchsdurchführung

Um eine Beeinflussung durch visuelle Reize auszuschließen, wurden sämtliche Verhaltensversuche bei absoluter Dunkelheit in einem lichtdichten Raum durchgeführt. Die Versuchsbehälter wurden hierbei mit nicht sichtbarer Infrarot-Strahlung ausgeleuchtet. Als Infrarotquelle diente eine umgebaute und mit mehreren IR-Filtern (Schott & Gen.) versehene Mikroskopleuchte. Über ein Infrarot-Sichtgerät konnte das Verhalten der Versuchstiere direkt beobachtet werden. Eine andere Möglichkeit der Beobachtung bestand darin, das Verhalten der Versuchstiere über eine IR-empfindliche Videokamera zu beobachten und durch ein Aufnahmegerät auf Magnetband zur späteren Auswertung aufzuzeichnen. Die Dauer fast sämtlicher Versuche wurde auf 20 min. festgelegt. Lediglich ein Teil der Versuche zur olfaktorischen Orientierung, bei dem die

Versuchstiere mit dem Infrarot-Sichtgerät ohne Videoaufzeichnung beobachtet wurden, wurde auf 5 min. begrenzt.

Die jeweilige Beute wurde den Versuchstieren entweder in ca. 2 cm Entfernung (kleine Tiere) oder in ca. 4 cm Entfernung (größere Tiere) schräg vor die Schnauzenspitze gelegt. Eine Ausnahme bildeten hier wiederum die Orientierungsversuche, bei denen teilweise größere Beuteentfernungen (siehe Abb. 35 - 45) gewählt wurden.

Zur Ermittlung der Verhaltenswirksamkeiten der Extraktproben wurden geringe Mengen der Extrakte auf gereinigtes Filterpapier aufgetropft und nach Verdampfen des Lösungsmittels den Versuchstieren in der beschriebenen Weise dargeboten. In die Auswertung wurde hier nur die Anzahl der Schnappreaktionen einbezogen.

Ansonsten wurde bei den Verhaltensversuchen neben den Schnappreaktionen die Gesamtzeit (i.e. die Zeit vom Her-eingeben der Beute in den Versuchsbehälter bis zur Schnappreaktion) und - bei den Lernversuchen - die Fixierzeit (i.e. die Zeit vom Erreichen der Beute bis zur Schnappreaktion) als Maß für die Attraktivität einer Beute bzw. des Beutegeruchs protokolliert.

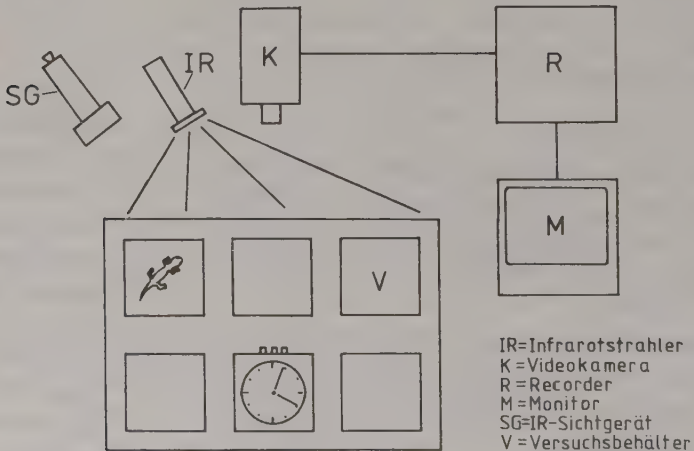


Abb. 1: Versuchsaufbau (schem.) der Verhaltensversuche (nähere Einzelh. siehe Text).

Bei einem Teil der Orientierungsversuche wurde der von den Tieren zurückgelegte Weg auf einer vor den Monitorschirm der Videoanlage geklebten Folie nachgezeichnet.

2.3 ELEKTROPHYSIOLOGIE

2.3.1 Versuchstiere

Die Ableitungen wurden an insgesamt 18 lungenlosen Salamandern (Fam. Plethodontidae) durchgeführt. Lungenlose Salamander bieten bei Ableitungsversuchen erhebliche Vorteile gegenüber anderen Amphibien, da wegen des Fehlens der Lungen der Sauerstoffbedarf hauptsächlich über die Haut gedeckt wird. Die Sauerstoffversorgung pharmakologisch immobilisierter Tiere wird daher auch nach Ausfall der Kehlbodenatmung nur wenig beeinträchtigt. So zeigte es sich im Laufe der Versuche immer wieder, daß die Spikeamplituden der abgeleiteten Neurone auch nach mehrstündigen Versuchen nicht abnahmen. Für den guten Allgemeinzustand der Versuchstiere spricht auch die bei nur 18 Tieren relative hohe Anzahl von über 100 abgeleiteten Neuronen.

Es wurden hierbei im Einzelnen verwendet: 9 italienische Schleuderzungensalamander (Hydromantes italicus), 5 nordamerikanische Rotwangensalamander (Plethodon jordani) und 4 nordamerikanische Bachsalamander (Desmognathus ochrophaeus). Vor und während der Versuche wurden die Versuchstiere bei 14 - 18°C in Kunststoffbecken auf feuchtem Schaumstoff gehalten und 1 x pro Woche mit Grillen gefüttert.

2.3.2 Versuchsdurchführung

Vor Beginn der Versuche wurden die Versuchstiere durch intraperitoneale Injektion einer 1%-igen Succinyl-Lösung (0,15 ml/ 10 g Körpergewicht) immobilisiert. Unter Lokalanästhesie (2%-Xylocain) wurde danach die Schädelkapsel über dem Vorderhirn eröffnet und die Oberfläche der Bulbi olfactorii durch Einreißen der Hirnhäute freigelegt. Ebenfalls unter Lokalanästhesie wurden die Nares durch vorsichtiges Abtragen des umgebenden Gewebes erweitert, so daß eine direkte Reizapplikation durch das Olfaktometer möglich war.

Die extrazelluläre Ableitung von Einzelzellpotentialen erfolgte mit Glaskapillarelektroden, die mit einer 2-molaren KCL-Lösung gefüllt waren. Da die sekundären Neurone des olfaktorischen Systems spontanaktiv sind, war das Auffinden von Zellen in der Mitralzellschicht relativ problemlos.

Während der Versuche wurden die Versuchstiere mit angefeuchtetem Fließpapier bedeckt und so vor dem Austrocknen geschützt.

Als Geruchsstimuli wurden verwendet:

1. Grillengeruch
2. Regenwurmgeruch
3. n-Hexanal (0,005 %-ige Hexanallösung in Hexan)

Für die Reizapplikation wurden entweder 2 - 3 juvenile Grillen, ein größeres Stück Regenwurm oder ein Stück gereinigtes Filterpapier, auf das die Hexanallösung (30 μ l) getropft wurde, in die Glaskolbenspritze des Olfaktometers gefüllt. Jeder Stimulus wurde zweimal getestet, wobei zwischen den einzelnen Reizapplikationen ein zeitlicher Abstand von etwa 2 Minuten gelassen wurde. Soweit es möglich war, wurde jeder Stimulus ipsilateral, kontralateral und bilateral getestet. Bei den ipsi-, bzw. kontralateralen Reizungen war die Öffnung der jeweils anderen Nasenhöhle durch ein Stück dünner angefeuchteter Kunststoffolie abgedeckt. Die Stimuli wurden in ständig wechselnder Reihenfolge gegeben.

2.3.3 Olfaktometer und Versuchseinrichtung

Um eine möglichst definierte Reizapplikation zu gewährleisten, wurde ein einfaches Olfaktometer gebaut, dessen Hauptbestandteil eine auf einem Rahmen montierte, austauschbare Glaskolbenspritze (10 ml) war (s. Abb. 2). Der Antrieb des Glaskolbens innerhalb der Spritze erfolgte über eine drehbare Welle und ein Schneckengetriebe durch einen Schrittmotor. Vorschubdauer und Geschwindigkeit wurden ebenso wie der Reizbeginn und die Aufnahmedauer durch eine Steuereinheit geregelt.

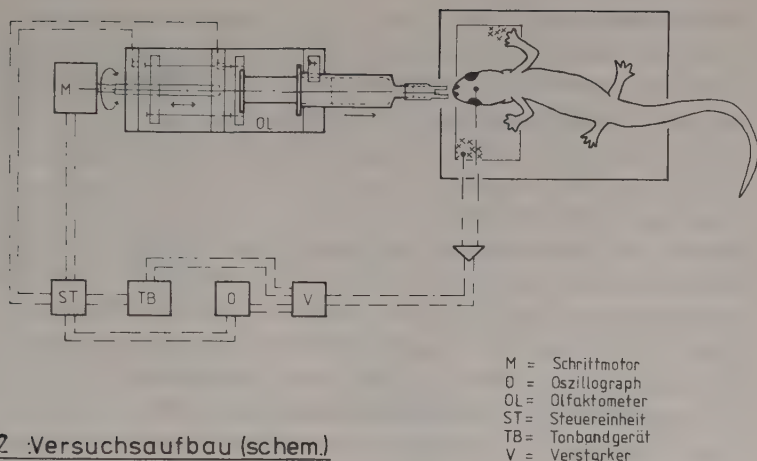


Abb 2 :Versuchsaufbau (schem.)

Abb. 2: Versuchsaufbau (schem.) der Ableiteinrichtung (nähere Einzelh. siehe Text).

Die Entladungsrate der Neurone vor, während und nach der Reizapplikation wurde über zwei Verstärkerstufen auf einem Speicheroszillographen dargestellt und gleichzeitig auf Magnetband aufgezeichnet. Für die Auswertung wurden die Signale vom Oszillographenschirm abgefilmt und so in ihrem zeitlichen Verlauf auf Filmstreifen festgehalten. Als Referenz für Stimulusbeginn und Stimulusende diente ein vom Schrittmotor kommendes Signal, das auf den zweiten Strahl des Oszillographen gelegt wurde.

III. RESULTATE

3.1 Gaschromatographische und / massenspektrometrische Untersuchungen

3.1.1 GC-Analyse

Durch die gaschromatographische Analyse des "Grillen-Filter-papiers" (GFP-Probe) konnte das Auftreten von etwa 45 Verbindungen nachgewiesen werden. Diese zeigten auf Grund ihrer qualitativ / quantitativen Verteilung ein typisches Peakmuster (s. Abb. 3), das sich aus einem in der Mitte des Chromatogramms erscheinenden Hauptpeak (Nr. 7), 6 - 7 weiteren großen, 8 mittleren und einer Reihe kleinerer Peaks zusammensetzt.

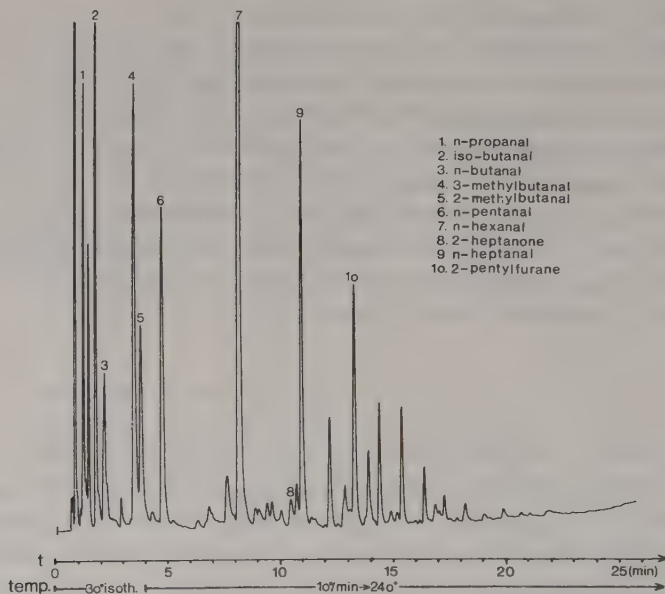


Abb. 3: Headspace-GC von Filterpapier aus Grillenzuchtkästen (GFP-Probe).

Diese für GFP-Proben charakteristische Peakverteilung veränderte sich, abgesehen von geringfügigen Schwankungen während eines Untersuchungszeitraumes von mehreren Monaten nicht. Dies wird sehr gut deutlich aus einem Vergleich zweier Chromatogramme, die in einem Abstand von etwa einem Monat aufgenommen wurden (s. Abb.4). Beide Chromatogramme sind - unter Berücksichtigung einer etwas unterschiedlichen Gesamtkonzentration - nahezu identisch.

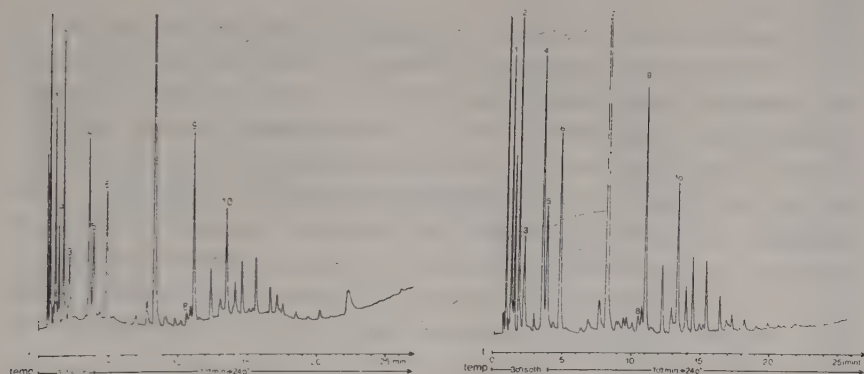


Abb. 4: Vergleich zweier GC's vom 28.8. und 24.9.1982

3.1.2 MS-Analyse

Die massenspektrometrische Untersuchung zeigte, daß an etwa 15 Stellen des Chromatogramms Molekül- bzw. Fragmentmassen mit besonders hoher Intensität in Erscheinung traten. Ein Vergleich der Summenpeaks (hierbei werden alle zu einem bestimmten Zeitpunkt auftretenden Massen summarisch aufgezeichnet) mit den Hauptpeaks der Chromatogramme macht deutlich, daß diese einander zugeordnet werden können (s. Abb. 6).

Die graphische Darstellung der Massenverteilung ergab bei 9 von ihnen eine gute Übereinstimmung mit den in der Literatur angegebenen Daten (Stenhagen et al., 1974) (s. Abb. 8 - 16). Eine weitere Verbindung (Nr. 2, iso-Butanal) konnte durch einen Vergleich zweier Spektren nachgewiesen werden. Das starke Auftreten von Massen im Bereich 40 - 45 ist hier offenbar auf eine unzureichende Trennung zweier Verbindungen während der gaschromatographischen Analyse zurückzuführen. Alle weiteren Peaks zeigten auch bei mehrfacher Wiederholung der Analyse keine eindeutigen Spektren und konnten daher nicht identifiziert werden.

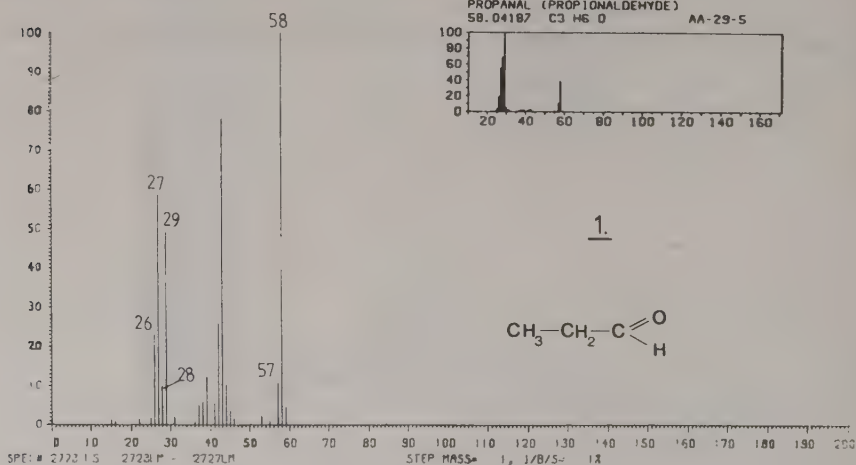


Abb. 5: Massenspektrum des Peaks Nr. 1 (s. GFP-Chromatogramm in Abb. 3). Rechts oben in der Abb. ist das der vermuteten Verbindung entsprechende Spektrum (s. Stenhagen et al., 1974) dargestellt. Die bei den Massenzahlen 41 - 44 auftretenden Fragmentpeaks sind auf Verunreinigungen im Trägergas zurückzuführen.

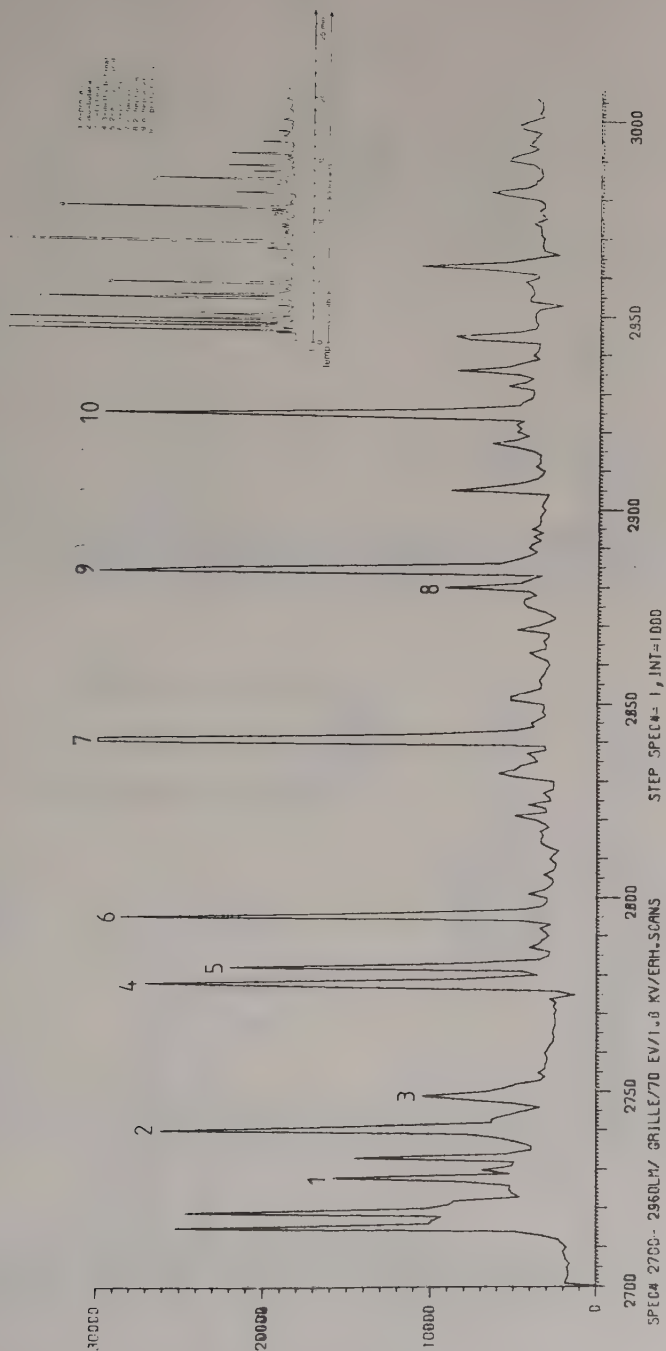
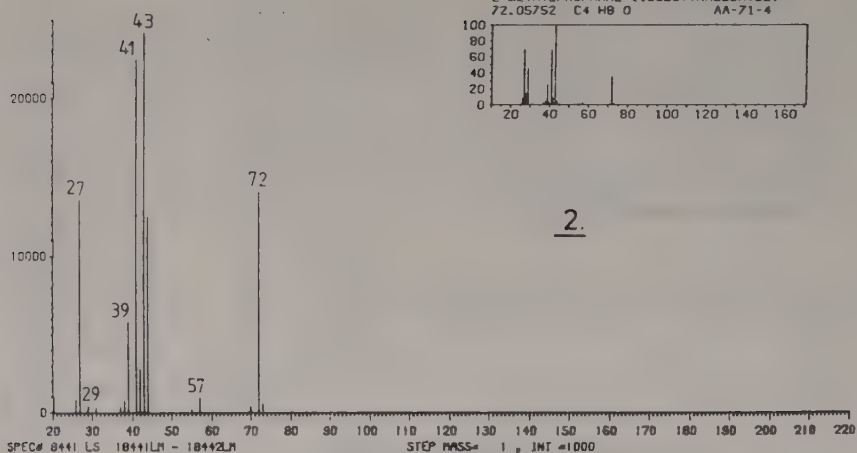
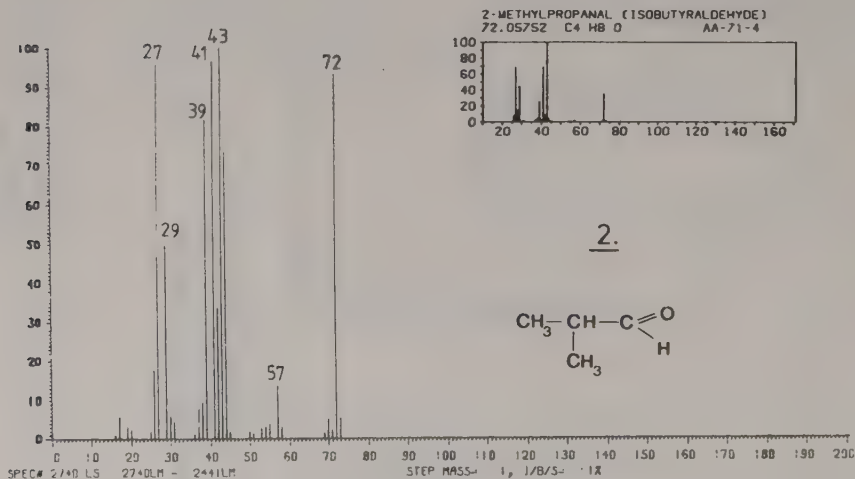


Abb. 6: Summenplot der Massenverteilung während der MS-Analyse. Zum Vergleich ist rechts oben in der Abbildung das Chromatogramm einer GFP-Probe dargestellt.



2.



2.

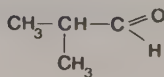


Abb. 7 und 8: Massenspektren der Peaks Nr. 2 (nähere Einzelheiten hierzu s. Text).

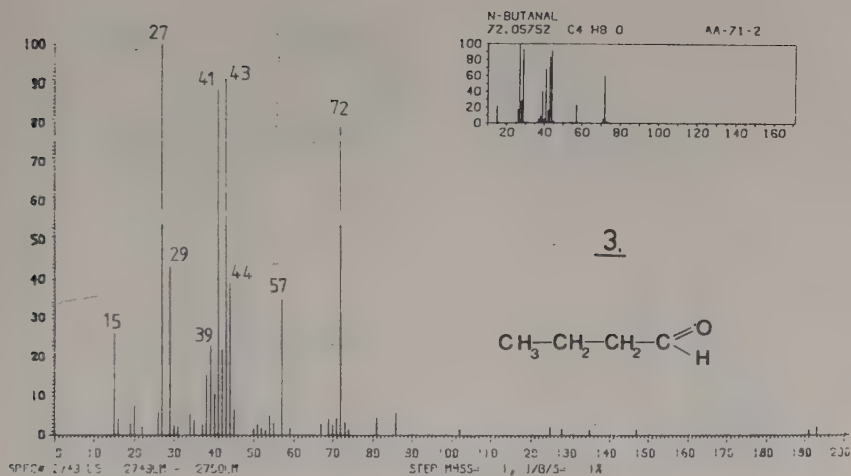


Abb. 9: Massenspektrum des Peaks Nr. 3

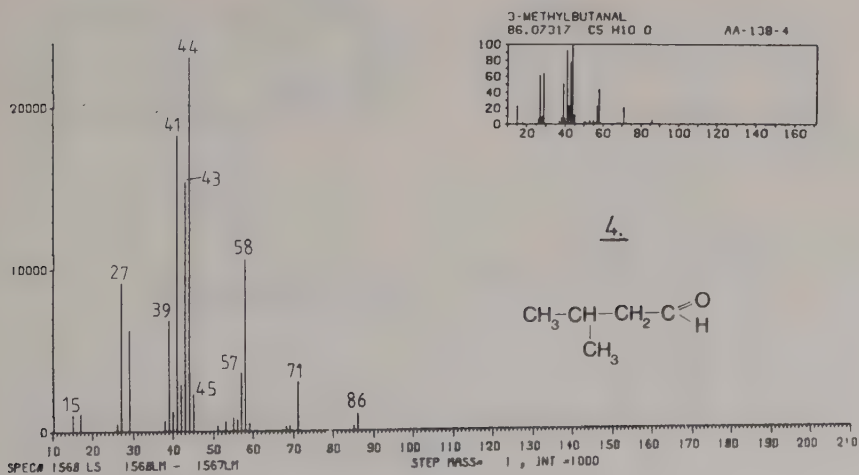


Abb. 10: Massenspektrum des Peaks Nr. 4

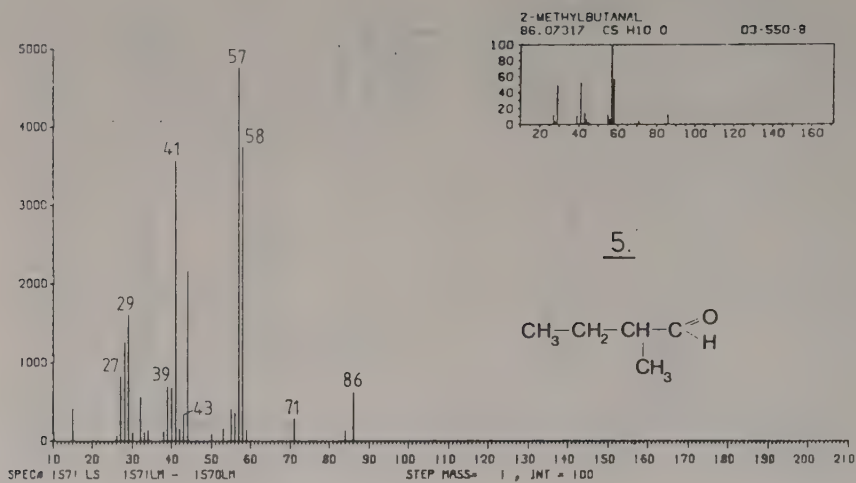


Abb. 11: Massenspektrum des Peaks Nr. 5

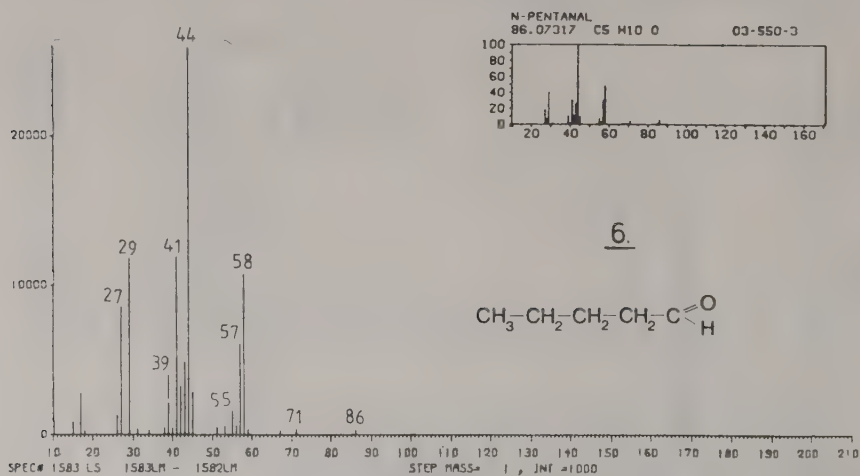


Abb. 12: Massenspektrum des Peaks Nr. 6

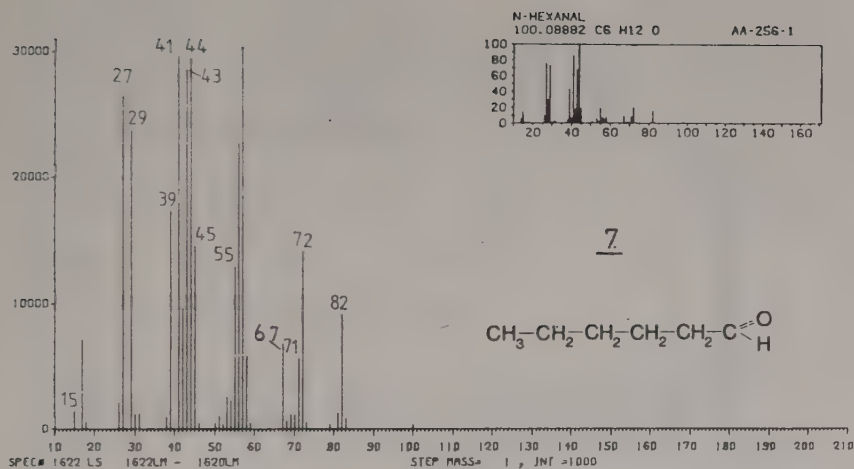


Abb. 13: Massenspektrum des Peaks Nr. 7

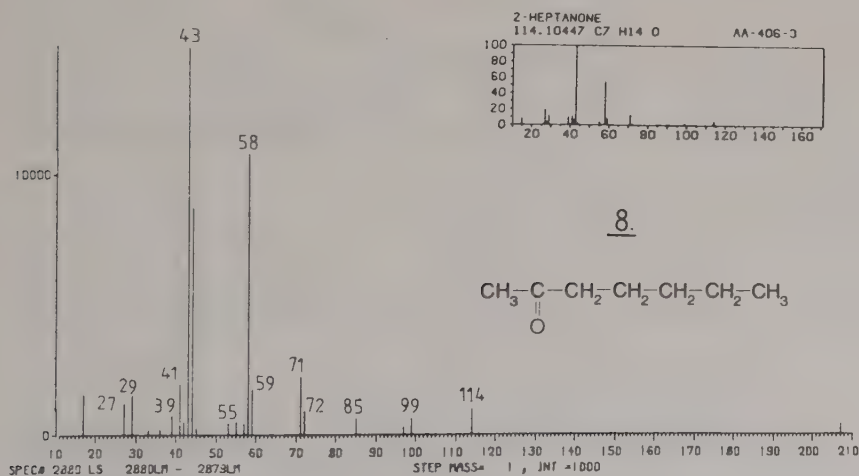


Abb. 14: Massenspektrum des Peaks Nr. 8

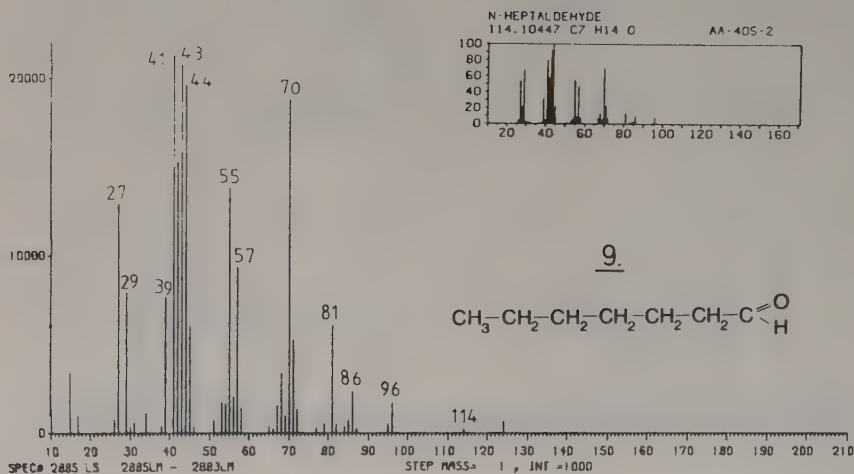


Abb. 15: Massenspektrum des Peaks Nr. 9

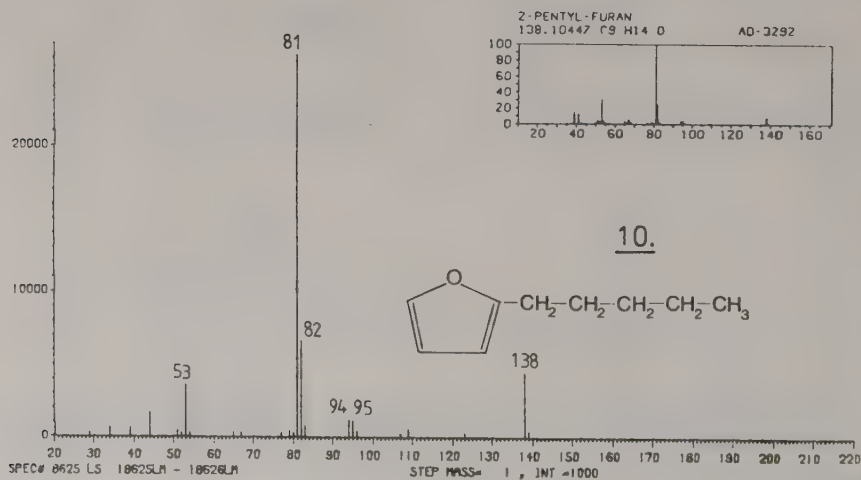


Abb. 16: Massenspektrum des Peaks Nr. 10

Eine weitere Absicherung dieser Ergebnisse erfolgte durch einen gaschromatographischen Retentionszeitenvergleich von Referenzsubstanzen (Verb.: 1 - 10) mit den entsprechenden Komponenten der Chromatogramme. Hierbei wurden die Säulenlaufzeiten der Referenzsubstanzen mit denen der entsprechenden Peaks einer GFP-Probe unter identischen Bedingungen verglichen. In Abb. 17 ist die Vorgehensweise an drei Beispielen dargestellt. Es zeigte sich, daß die massenspektrometrischen Ergebnisse und die Befunde des Retentionszeitenvergleiches übereinstimmten. Damit war das Hauptkriterium für die GC/MS-Identifizierung chemischer Verbindungen erfüllt.

Von den so nachgewiesenen zehn Verbindungen waren allein acht geradkettige Aldehyde im Bereich von $C_3 - C_7$ (s. Tabelle 1), die alle starke Geruchsstoffe darstellen.

1. n-Propanal	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$
2. iso-Butanal	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{-CH-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix} \end{array}$
3. n-Butanal	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$
4. 3-Methylbutanal	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-CH}_2\text{-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
5. 2-Methylbutanal	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
6. n-Pentanal	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$
7. n-Hexanal	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$
8. 2-Heptanon	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-C-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$
9. n-Heptanal	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{//} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$
10. 2-Pentylfuran	 $\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$

Tab. 1: Identifizierte Verbindungen aus GFP-Proben

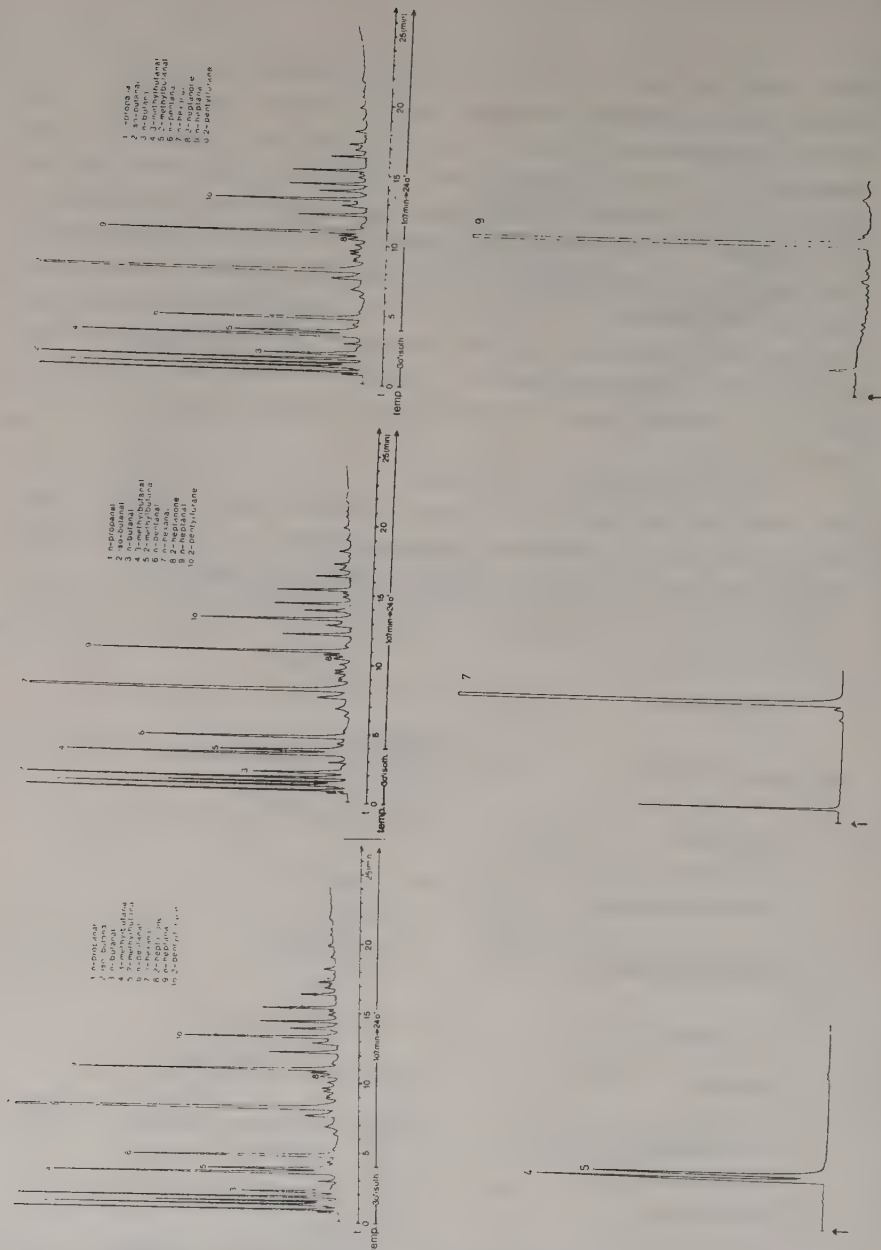


Abb. 17: Peakidentifikation durch Retentionszeitenvergleich. Die Abbildung zeigt an drei Beispielen Vergleiche der Retentionszeiten von Referenzsubstanzen mit den entsprechenden Peaks eines GFP-Chromatogramms

3.1.3 Aldehyd-Nachweis durch Reaktion mit Natriumhydrogensulfid

Das überwiegende Vorhandensein von Aldehydverbindungen in Grillengeruch konnte durch einen weiteren Nachweis abgesichert werden. Hierzu wurde die selektive Reaktion von Aldehyden mit Natriumhydrogensulfid ausgenutzt. Abb. 18 zeigt, daß nach Zusatz von Natriumhydrogensulfid zu einer GFP-Probe das Auftreten vieler Peaks quantitativ vermindert oder völlig unterdrückt wird.

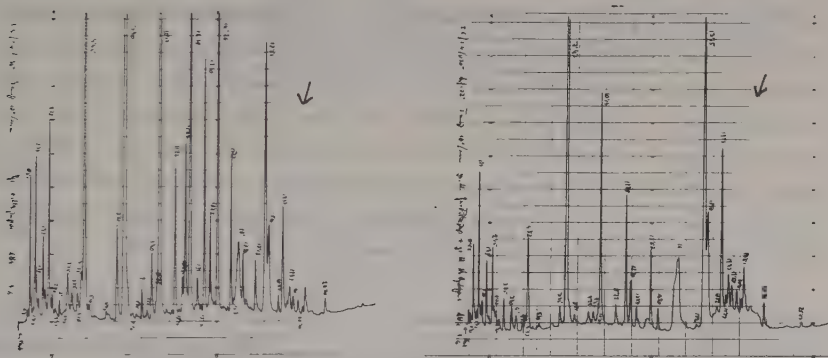


Abb. 18: Aldehydnachweis durch Reaktion mit Natriumhydrogensulfid.

A: Probe ohne Natriumhydrogensulfid ; B: Probe mit Natriumhydrogensulfid. Bei den am Ende des Chromatogramms auftretenden Peaks (s. Pfeil) handelt es sich um Verunreinigungen.

Zu diesen Abbildungen ist anzumerken, daß die dargestellten Chromatogramme in einem frühen Stadium der Untersuchungen unter veränderten Bedingungen aufgenommen wurden und daß daher eine Reihe von Peaks erscheinen, deren Auftreten auf Verunreinigungen im GC-System zurückzuführen sind. Die hier dargestellten Chromatogramme geben daher nicht genau das charakteristische Bild von GFP-Proben späterer Aufnahmen wieder.

3.2.1 Verhaltenswirksamkeit der Proben

Die durch GC/MS-Analysen nachgewiesenen Verbindungen wurden zunächst einzeln in sehr kleinen, äußerst gering konzentrierten Mengen auf ihre Verhaltenswirksamkeit hin untersucht. Es zeigte sich, daß diese Substanzen einzeln nicht verhaltenswirksam waren, d.h. es konnten keine Schnappreaktionen ausgelöst werden. Auch verschiedene Gemische der identifizierten Verbindungen erwiesen sich als unwirksam in Bezug auf die Auslösung von Schnappreaktionen. Gaschromatographische Untersuchungen dieser artifiziellen Substanzgemische zeigten erhebliche Abweichungen gegenüber dem charakteristischen Peakmuster, das sich bei der Analyse von GFP-Proben ergeben hatte. Eine genauere Nachahmung der natürlichen quantitativen und qualitativen Verhältnisse hätte einen erheblichen zeitlichen und apparativen Mehraufwand bedeutet und wurde daher nicht weiter verfolgt.

Für eine eingehendere Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Verhaltenswirksamkeit und Komponentenzusammensetzung erwies sich die folgende Untersuchungsmethode als geeigneter:

Bei Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß Beutegeruchsextrakte, hergestellt durch Spülen von Grillen in verschiedenen organischen Lösungsmitteln, unterschiedlich stark verhaltenswirksam waren. Diese Extrakte wurden daraufhin einer eingehenden Verhaltensanalyse unterzogen, wobei ihre Verhaltenswirksamkeit mit der von GFP-Proben verglichen wurde. Dabei ergaben sich die in Tab. 2 und Abb. 19 dargestellten relativen Wirksamkeiten, für deren Ermittlung hier nur die Anzahl der Schnappreaktionen pro Versuch berücksichtigt wurden. Die Prozentzahlen beziehen sich hierbei immer auf die Wirksamkeit frisch toter Grillen. Diese wurde gleich 100 % gesetzt (s. Material und Methode).

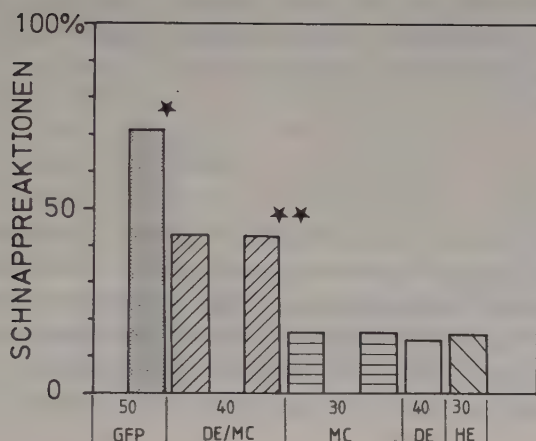


Abb. 19: Verhaltenswirksamkeit der Proben.
 DE: Diethyletherextrakt; MC: Methylenchloridextrakt; HE: Hexanextrakt; DE/MC: Diethylether-Methylenchloridextrakt.
 Die Zahlen unter dem Säulendiagramm zeigen die Anzahl der Verhaltensversuche. Der Unterschied zwischen der GFP-Probe und dem DE/MC-Extrakt ist signifikant ($\alpha < 0,5\%$), ebenso der Unterschied zwischen dem DE/MC-Extrakt und dem MC-Extrakt ($\alpha < 2,5\%$).

Die statistische Auswertung der Daten zeigte, daß die Verhaltenswirksamkeiten der Extrakte 1 (MC; VH-Wirksamkeit: 16,6%), 2 (DE; VH-Wirksamkeit: 15,0%) und 3 (HE; VH-Wirksamkeit 16,6%) als nicht signifikant voneinander unterschieden anzusehen sind ($\alpha > 25\%$), während zwischen diesen Extrakten und dem Extrakt 4 ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die VH-Wirksamkeit besteht ($\alpha < 2,5\%$). Der Unterschied zwischen der Grillen-Filterpapierprobe und dem Extrakt 4 (DE/MC) ist ebenfalls signifikant ($\alpha < 0,5\%$; Vgl. von Binominalparametern; s. Clauss-Ebner, 1980). Die Extrakte hatten somit sämtlich eine deutlich geringere Verhaltenswirksamkeit als die GFP-Proben. Zu erwähnen ist noch, daß in vielen Fällen Versuchstiere, nachdem sie den Extraktstimulus

lokalisiert hatten, vor diesen stehenblieben und oft längere Zeit daran witterten - häufig in Verbindung mit der sogenannten Witterstellung - ohne jedoch anschließend nach dem Stimulus zu schnappen. Diese Beobachtungen wurden jedoch nicht in die Auswertung einbezogen.

3.2.2 GC-Analyse der Extrakt-Proben

Die Extrakte wurden anschließend nach der gleichen Methode wie die GFP-Proben gaschromatographisch untersucht, wobei hier jedoch auf eine massenspektrometrische Analyse verzichtet wurde, da die hier auftretenden Peaks Retentionszeiten hatten, die - bis auf geringfügige Abweichungen - mit denen der GFP-Proben-Chromatogramme identisch waren.

Berücksichtigt man hierbei die im Vergleich mit den GFP-Proben etwas niedrigere Gesamtkonzentration der Extraktchromatogramme, die mit der Art und Weise der Probengewinnung zusammenhing, so ergab sich hier folgendes Bild:

Die Verwendung von Dichlormethan zur Extrakterstellung führte zu Chromatogrammen, die durch eine Anhebung der später erscheinenden, höhermolekularen bzw. unpolareren Komponenten gekennzeichnet sind (s. Abb. 20). Die Verwendung von Diethylether hatte dagegen in gewisser Beziehung den gegenteiligen Effekt. So zeigt das Chromatogramm der Methylenchlorid-Probe (Extrakt 1), daß im Vergleich zu Chromatogrammen von GFP-Proben die spät erscheinenden Komponenten herausgehoben sind, während im Chromatogramm der Diethylether-Probe (Extrakt 2) diese mehr oder weniger unverändert erscheinen.

Dagegen treten hier einige der früh auftretenden Peaks viel stärker in Erscheinung (so z. B. die identifizierten Peaks 1 und 3), andere (z. B. 2, 4 und 5) sind jedoch stark vermindert.

Vergleicht man dagegen das Chromatogramm des Extrakts 4 mit dem Chromatogramm der GFP-Probe, so wird deutlich, daß ein großer Teil der identifizierten Komponenten (1, 4, 6, 7, 8) ähnliche oder identische relative Peakhöhen aufweist. Andere

dagegen (2, 3, 9) unterscheiden sich in stärkerem Maße. Das gleiche gilt für die nicht identifizierten Komponenten.

Extrakte, die durch Verwendung des Lösungsmittels Hexan hergestellt wurden, produzierten Chromatogramme, die von allen übrigen erheblich in bezug auf die früh erscheinenden Verbindungen und hinsichtlich des Hauptpeaks in der Mitte des Chromatogramms abwichen.

Insgesamt gesehen zeigten die Peakmuster der Chromatogramme somit eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Verhaltensversuche. So war das Peakmuster des Extrakts 4 (Verhaltenswirksamkeit: 42,5%) dem Peakmuster der GFP-Probe (Verhaltenswirksamkeit: 72,0%) offensichtlich ähnlicher als die Peakmuster der übrigen Extrakte (Verhaltenswirksamkeit: 16,6; 16,6; 15,0 %).

2.3 Mathematische Analyse der Peakmuster

Da eine Beurteilung nur nach Augenschein unbefriedigend bleiben muß, wurde der Versuch einer mathematischen Analyse der Peakmuster unternommen. Hierzu wurden die Peaks der Extraktchromatogramme mit denen des GFP-Chromatogramms in folgender Weise verglichen:

Die Höhen sämtlicher einander entsprechenden Peaks in einem typischen GFP-Chromatogramm und dem jeweils zu untersuchenden Extrakt-Chromatogramm wurden gemessen, wobei der Wert jeder einzelnen Höhe anschließend durch die Gesamtsumme aller Höhen geteilt wurde, um Gesamtkonzentrationsunterschiede auszugleichen. Die Höhenwerte für jeden auftretenden Peak, der im jeweiligen Vergleichschromatogramm ohne Entsprechung blieb, wurden mitgezählt, als Vergleichswert wurde hier jedoch der Wert 0 eingesetzt, wodurch bei der späteren Subtraktion eine Reihe negativer Werte entstanden. Als nächster Schritt wurden die einander entsprechenden Werte der Peakhöhen paarweise nach der Formel

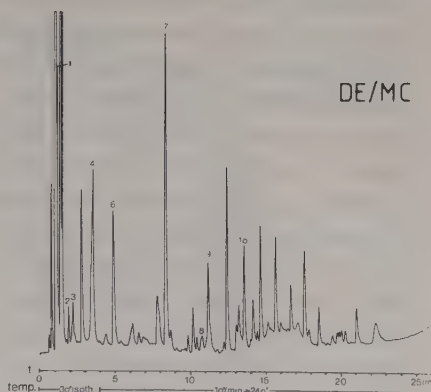
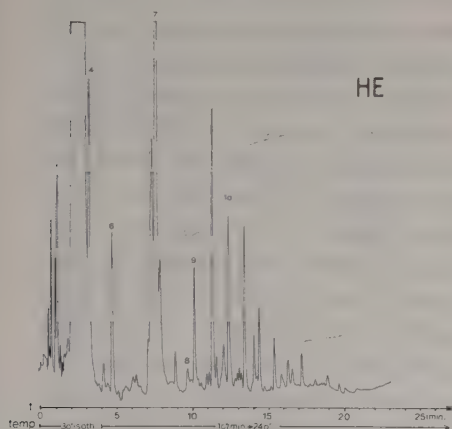
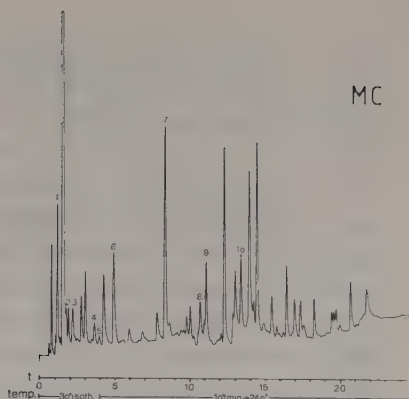
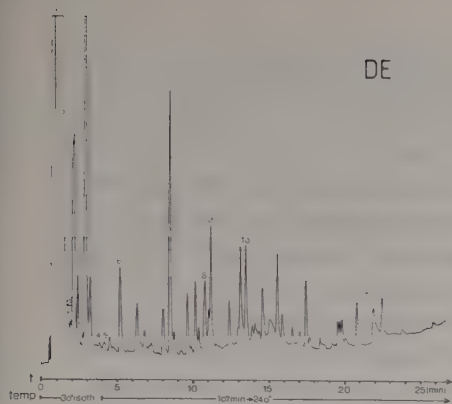
$$d(\text{Probe } j; \text{ Probe } k) = \sqrt{\sum_i (x_{ij} - x_{ik})^2}$$

voneinander abgezogen. Hierbei ist d der Wert für die Differenz der Proben, während x_{ij} die Peakhöhe von Substanz i in Chromatogramm j und x_{ik} den entsprechenden Wert in Chromato-

gramm K darstellt. Ebenso wurde natürlich mit allen Peakwerten verfahren, die keine Entsprechung im jeweiligen Vergleichschromatogramm hatten, wobei, wie erwähnt, eine Seite den Wert 0 bekam. Die so erhaltenen Summendifferenzwerte (d) können als ungefähres Maß für die Ähnlichkeit eines Extraktchromatogramms mit dem Vergleichs-GFP-Chromatogramm gelten. Auch hier zeigte sich eine relativ gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Verhaltensversuche und den Peakmustern der Chromatogramme einerseits und dem mathematisch ermittelten Differenzwert (d) andererseits (s.Tab. 2).

Extr.Nr.	Lösungsmittel	% VH-Wirksamk.	Differenzwert (d)
1	Methylenchlorid (MC)	16,6	25,5
2	Diethylether (DE)	15,0	22,6
3	Hexan (HE)	16,6	22,9
4	Diethylether/Me- thylenchl. (DE/MC)	42,5	17,4
z.Vgl.	GFP-Probe	72,0	0

Tab. 2: Verhaltenswirksamkeit und Differenzwerte der Proben



GFP

- 1 n-propional
- 2 iso-butanol
- 3 n-butanol
- 4 3-methylbutanal
- 5 2-methylbutanal
- 6 n-pentanol
- 7 n-hexanol
- 8 2-heptanone
- 9 n-heptanol
- 10 2-pentylpropanol

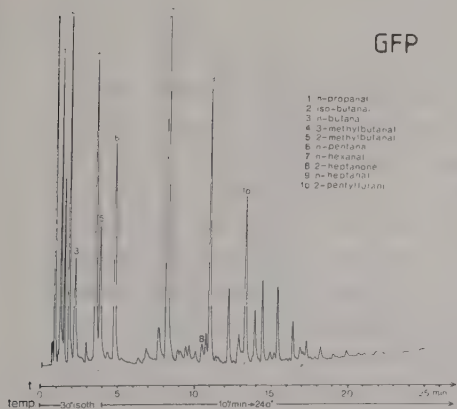


Abb. 20:
GC's von Extrakten, die durch Spülen von Grillen in verschiedenen Lösungsmitteln gewonnen wurden. Links ist zum Vergleich das Chromatogramm einer GFP-Probe dargestellt. (Abk. s. Abb. 19 u. Tab.1)

3.4 VERSUCHE MIT SCHWACH VERÄNDERTEM BEUTEGERUCH

3.4.1 Verhaltensversuche

Die bisherigen Untersuchungen hatten bei den Chromatogrammen der Extrakt-Proben erhebliche Veränderungen der Peakmuster gegenüber den GFP-Proben nachgewiesen. Diese Veränderungen waren je nach Ausmaß mit einem mehr oder weniger starken Verlust an Verhaltenswirksamkeit verbunden gewesen. In diesem Zusammenhang stellte sich die Frage, wie sich geringere Geruchsveränderungen auf das Beutefangverhalten auswirken. Bei der Untersuchung dieses Problems wurde wie folgt vorgegangen:

Juvenile Grillen wurden unmittelbar nach dem Schlüpfen unter Haltungs- und Fütterungsbedingungen aufgezogen, die nicht den herkömmlichen Aufzuchtbedingungen im Labor entsprachen. Insbesondere wurde das Futter verändert in der Annahme, daß dieses einen wesentlichen Einfluß auf den Geruch der Grillen haben sollte (s. Material und Methode). Ebenso wie bei normal aufgezogenen Grillen wurde auch hier gereinigtes Filterpapier für eine spätere gaschromatographische Analyse in die Aufzuchtkästen gelegt. Nach etwa drei Wochen wurde ein Teil der Grillen durch Tiefgefrieren getötet, und ihre Verhaltenswirksamkeit im Vergleich mit normal aufgezogenen Grillen wurde getestet. Die hierbei verwendeten Salamander waren vorher ausschließlich mit normal aufgezogenen Grillen gefüttert worden. Bei der Auswertung wurde

1. die Anzahl der gefressenen Grillen
2. die Gesamtzeit und
3. die Fixierzeit

berücksichtigt. Die graphische Darstellung der Ergebnisse in Abb. 21 zeigt, daß zwischen beiden Beuten (N = normal aufgezogen; V = veränderte Bedingungen) kein signifikanter Unterschied in bezug auf die Anzahl der gefressenen Beutetiere (= Beutefang in der Graphik) bestand, d. h. N- und V-Grillen wurden in der Versuchszeit von 20 Minuten gleich häufig gefressen ($p > 0,4$). Der Vergleich der Gesamtzeiten zeigt bei V-Grillen höhere Werte als bei N-Grillen (s. Abb. 22). Der Unterschied bewegt sich jedoch auf einem niedrigen Signifikanzniveau ($p > 0,2$), wobei hier allerdings eine extreme Streuung der Werte zu berücksichtigen ist. Lediglich bei

die Auswertung der Fixierzeiten (s. Abb. 23) ergaben sich hochsignifikante Unterschiede ($p < 0,001$; alle Versuche t-Test). Diese sind offenbar auf die "Unbekanntheit" des veränderten Beutegeruchs zurückzuführen.

Die Abbildung 24 macht deutlich, daß die Fixierzeiten bei V-Grillen anfänglich erheblich über denen bei N-Grillen liegen. Dieser Unterschied verschwindet ab dem 5. Versuchstag durch ein starkes Ansteigen der N-Werte. Dieser Anstieg ist auf eine ab hier erheblich nachlassende Beutefangaktivität aller Versuchstiere zurückzuführen, die dazu führte, daß die angebotene Beute nur noch gelegentlich und mit großen zeitlichen Verzögerungen gefressen wurde. Eine Erklärung für dieses unvermittelte Nachlassen der Beutefangaktivität kann nicht gegeben werden.

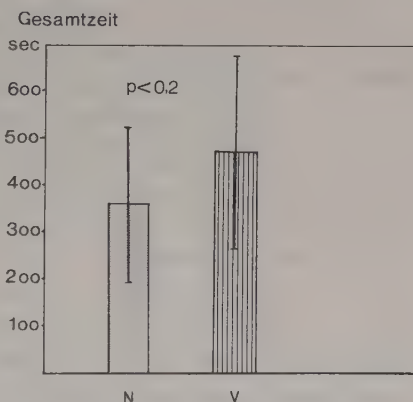
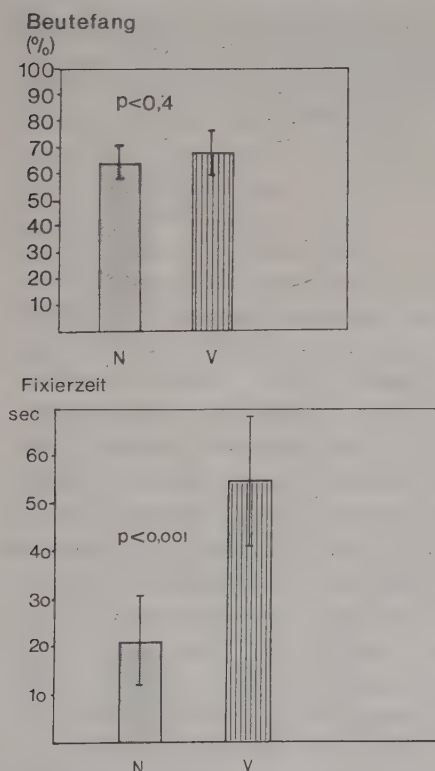


Abb. 21, 22, 23:
Vergleich von Schnappreaktionen (Beutefang), Gesamt- u. Fixierzeiten gegenüber unterschiedlichem Grillengeruch. N: Reaktionen gegenüber dem Geruch normal aufgezogener Grillen; V: Reaktionen gegenüber verändertem Grillengeruch (s. hz. a. Abb. 25).

Zu erwähnen ist noch, daß bei den Fixierzeiten gegenüber V-Grillen am ersten und zweiten Versuchstag zwei Werte auf-

traten (10 min 20 sec und 4 min 10 sec), die wegen ihrer ungewöhnlichen Länge nicht berücksichtigt wurden. Bei Einbeziehung dieser Werte hätte sich in Abb. 24 für die V-Werte eine deutlich abfallende Kurve ergeben.

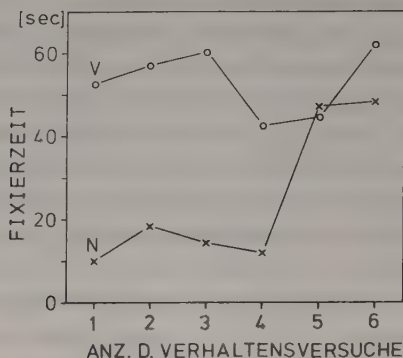


Abb. 24: Vergleich der Fixierzeiten gegenüber unterschiedlichem Grillengeruch im zeitlichen Verlauf. Das Ansteigen beider Kurven ab dem 4. Versuchstag ist auf ein allgemeines Nachlassen der Beutefangbereitschaft zurückzuführen.

3.4.2 GC-Analyse

Die gaschromatographische Untersuchung des V-Grillen-Filterpapiers (V-GFP) zeigte, daß die Geruchsstoffkonzentration auf dem Filterpapier niedrig war. Dies führte zu relativ schwachen Chromatogrammen (s. Abb. 25 u. 26). Dies ist darauf zurückzuführen, daß bei dem V-Grillen Zuchtansatz die Anzahl der verwendeten Tiere geringer war als bei der üblichen Laborzucht. Der Vergleich mit einem N-GFP-Chromatogramm ähnlich niedriger Konzentration läßt dennoch einen wesentlichen Unterschied in Bezug auf die Höhe des Peaks 9 (n-Heptanal) erkennen; dieser erscheint im Chromatogramm des V-Grillen Filterpapiers wesentlich höher konzentriert als in dem Vergleichschromatogramm des N-GFP's (s. Abb. 25 u. 26). Die übrigen Unterschiede - etwa das sehr schwache Auftreten der Peaks in der Umgebung des Peak 10 (2-Pentyl-Furan) (s. Pfeile) - sind aufgrund der geringen Gesamtkonzentration, die überdies bei beiden Proben nicht völlig übereinstimmen,

mit Zurückhaltung zu beurteilen. Festzuhalten bleibt jedoch hier, daß die Art des verwendeten Futters offensichtlich einen gewissen Einfluss auf die Zusammensetzung der Komponenten im Geruch von Grillen hatte.

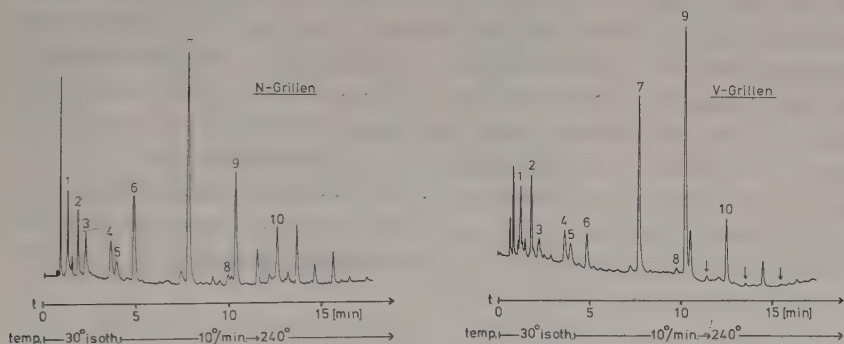


Abb. 25 und 26: Vergleich der GC's von GFP-Proben unterschiedlich gefütterter Grillen.

Insgesamt gesehen scheinen die Unterschiede im Geruch zwischen N- und V-Grillen jedoch erheblich geringer zu sein als die zwischen den verschiedenen Lösungsmittel-Extrakten. Dieser Sachverhalt stimmt gut mit den Ergebnissen der Verhaltensversuche überein.

3.5 VERSUCHE ZUM LERNVERHALTEN

3.5.1 Versuche mit Mehlwurmgeruch

Zur Überprüfung des Lernverhaltens von Salamandern gegenüber Beutegerüchen wurden bei 8 Tieren, die bis zum Beginn der Versuche nur Grillen gefressen hatten, die Verhaltensreaktionen gegenüber Mehlwurmgeruch untersucht. Die Versuchstiere waren zu diesem Zeitpunkt etwa 1 Jahr alt. Die Versuche, bei denen Schnappreaktionen, Gesamtzeit und Fixierzeit gemessen wurden, führten zu folgenden Ergebnissen:

- Die Anzahl der Schnappreaktionen gegenüber Mehlwurmgeruch steigt im Verlauf von 3 - 4 Verhaltensversuchen von 0 auf etwa 65 % an (s. Abb. 27).
- Die Verhaltenswirksamkeit von Grillengeruch (89,4 %), wird jedoch nicht erreicht.
- Gesamt- und Fixierzeit sinken im Laufe von 4 bzw. 6 Verhaltensversuchen auf Werte von 6 - 8 Minuten bzw. 18 Sekunden ab (s. Abb. 28 u. 29).

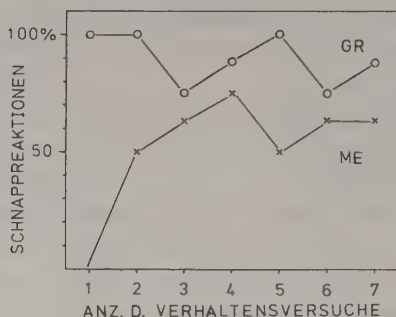


Abb. 27: Schnappreaktionen gegenüber neuem Beutegeruch. ME: Mehlwurmgeruch; GR: Grillengeruch. Die Reaktionen gegenüber Grillengeruch sind als Referenz dargestellt.

Die Referenzwerte der Fixier- und Gesamtzeiten wurden hier nicht ermittelt. Die nach Ablauf der anfänglichen Lernphase festgestellten Werte entsprachen jedoch ziemlich genau den Durchschnittswerten, wie sie in vielen Verhaltensversuchen, vor und nach diesen Experimenten mit denselben und anderen Tieren als Reaktionszeiten grillengefütterter Tiere gegen-

über Grillengeruch gemessen worden waren.

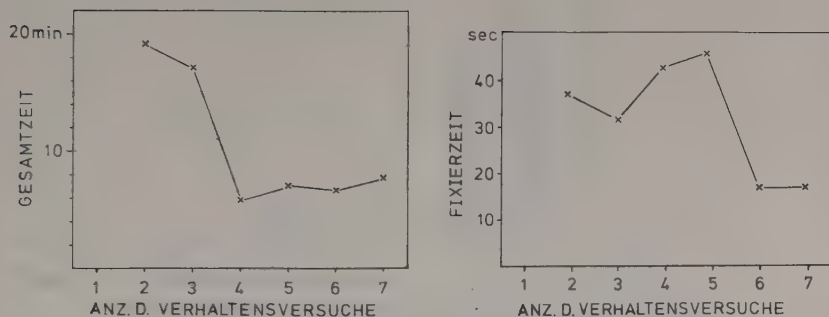


Abb. 28 und 29: Gesamt- und Fixierzeiten grillengefütterter Tiere gegenüber Mehlwurmgeruch.

3.5.2 Untersuchung der Verhaltensreaktionen gegenüber unterschiedlichen Beutegerüchen bei Tieren im Alter von 3 Jahren

Für diese Versuche wurden 9 Salamander im Alter von 3 Jahren verwendet, die bis dahin nur Regenwürmer gefressen hatten. Den Tieren wurden im Dunkeln Grillen bzw. Regenwürmer gegeben. Die Beutetiere wurden hierbei entweder 20 Minuten oder 24 Stunden in dem Versuchsbehälter belassen, wobei jeder Salamander jeweils eine Beute bekam. Es wurde bei dieser Versuchsserie nur notiert, wieviele der Versuchstiere ihre Beute gefressen hatten. Das Ergebnis zeigt, daß Regenwürmer als Beute sowohl bei 20 Minuten als auch bei 24 Stunden Versuchsdauer mit Abstand am besten gefressen werden (73,3 bzw. 80,0 %) (s. Abb. 30). Grillen wurden dagegen bei 20 Minuten Versuchsdauer kaum beachtet (4%), während bei einer Versuchsdauer von 24 Stunden immerhin 26 % gefressen wurden.

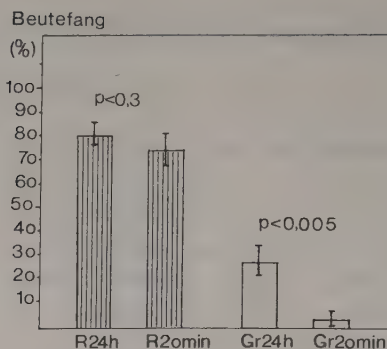


Abb. 30: Beutefangreaktionen regenwurmgefütterter Tiere gegenüber Regenwurm- und Grillengeruch bei einer Versuchsdauer von 24 h bzw. 20 min. R: Regenwurmgeruch; GR: Grillengeruch

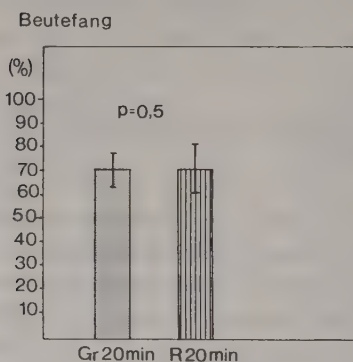


Abb. 31: Beutefangreaktionen grillengefütterter Tiere gegenüber Regenwurmgeruch bei einer Versuchsdauer von 20 min. (Abkürzungen s. Abb. 30).

Diese Werte veränderten sich nicht in einem Zeitraum von 6 Wochen, in dem pro Woche 3 Verhaltensversuche gemacht wurden.

Die hierbei verwendeten regenwurmgefütterten Salamander wurden nach Beendigung der Versuche unter normalen Bedingungen - d.h. bei Licht - mit lebenden Grillen weiter gefüttert, die auch stets gefressen wurden. Dieselben Versuchstiere wurden, nach dem sie etwa 6 Monate mit Grillen gefüttert worden waren, für die Versuche zur olfaktorischen

Orientierung verwendet. Hierbei stellte sich heraus, daß es nicht möglich war, Grillen als Geruchsstimulus zu verwenden, da die Tiere diese Beute in der gewählten Versuchszeit von zuerst 5 (1. Versuchsserie), dann 20 Minuten (2. Versuchsserie) nicht beachteten. Es muß betont werden, daß die Orientierungsversuche unter Dunkelbedingungen durchgeführt wurden. Zur Beuteidentifikation stand daher also lediglich der Geruch der Beute zur Verfügung. Die Tatsache, daß Grillengeruch nicht beachtet wurde, macht deutlich, daß die hier verwendeten 3 - 4-jährigen Versuchstiere nicht gelernt hatten, Grillengeruch als beuterelevanten Geruchsreiz anzusehen. Dies ist umso überraschender, da die Tiere, wie erwähnt, über einen längeren Zeitraum Grillen als visuelle Beute erhalten und gefressen hatten und mit dem Geruch hätten vertraut sein müssen. Für diese Versuche mußten daher Regenwurmstücke als Stimulus verwendet werden.

3.6 VERSUCHE ZUR OLFAKTORISCHEN ORIENTIERUNG

3.6.1 Orientierung im Nahbereich einer Beute

Hierzu wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt. Bei der ersten Versuchsreihe war die Versuchszeit auf 5 Minuten begrenzt; die Versuchstiere wurden direkt mit dem Infrarot-Sichtgerät beobachtet. Die Beuteentfernung betrug 2 - 3 cm, wobei die Beute dem Versuchstier entweder in rostro-caudaler Richtung oder aber schräg in einem Winkel von ca. 25 Grad vor die Schnauzenspitze gelegt wurde (s. Abb.32). Es ist hierbei anzumerken, daß die beobachteten Bewegungsabläufe selten kontinuierlich waren, sondern sich in der Regel in einzelne, kurze Abschnitte aufgliedern ließen, die hier als Orientierungsbewegungen bezeichnet werden. Notiert wurden Richtung und Ausmaß der auftretenden Orientierungsbewegungen.

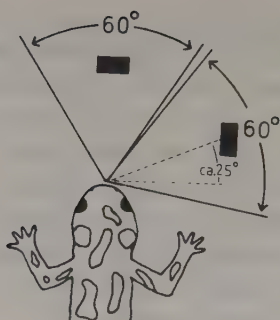


Abb. 32: Richtungswahlkriterium (Erläuterungen hz. s. Text)

Zur Auswertung kamen nur Versuche, bei denen die Versuchstiere innerhalb von 5 Minuten gefressen hatten (41 von 76). Die Orientierungsbewegungen wurden nach ihrer Richtung gegenüber der Beute als richtig oder falsch bewertet. Als Kriterium hierfür wurde ein Winkel von 60 Grad festgelegt, in dessen Mitte sich die Beute befand (s. Abb. 32). Alle Richtungswahlen (Orientierungsbewegungen), die sich innerhalb dieses Winkels befanden, wurden als richtig gewertet.

Bei der Auswertung zeigte sich, daß während der ersten 3 Orientierungsbewegungen keine Richtungspräferenz bestand, d.h. richtige und falsche Richtungen wurden gleich häufig gewählt (s. Abb. 33). Erst nach der 3. Orientierungsbewegung wurde überwiegend die richtige Richtung gewählt ($\chi^2 = 0,05$; Sequentialanalyse). Das Erkennen der Richtung, in der sich die Beute befand, schien hierbei vom Auftreten der Witterstellung abhängig zu sein. Abb. 33 zeigt, daß unmittelbar nach Hereingeben der Beute, also vor der ersten Orientierungsbewegung, keine Witterstellung zu beobachten war. Nach der ersten Orientierungsbewegung witterten 12 %, nach der zweiten 20 % und nach der dritten 40 %. Bei der Auswertung der Richtungswahlen nach Witterstellungen - unabhängig von der Anzahl der Orientierungsbewegungen - zeigte sich, daß, in 89,3 % der Fälle die richtige Richtung gewählt wurde ($\chi^2 = 0,025$, Sequentialanalyse). In den Abb. 3 und 4 sind einige Beispiele für das Auffinden von Geruchsbeute dargestellt. Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Witterstellung

und einer gezielten Orientierung wird hier sehr deutlich.

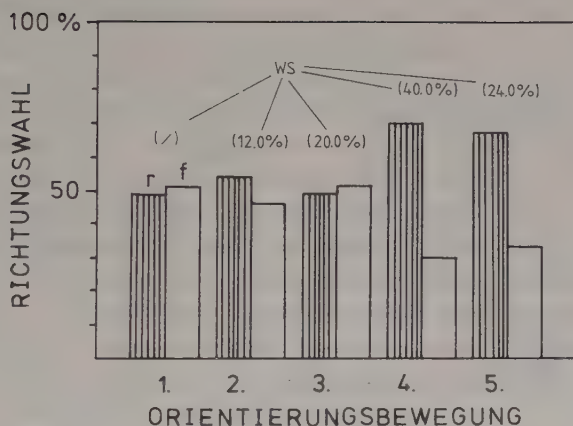


Abb. 33: Abhängigkeit der Richtungswahl von Orientierungsbe-
 wegung und Witterstellung bei geringer Beuteentfer-
 nung; r: richtig, f: falsch; WS: Witterstellung.
 Die Unterschiede zwischen den Richtungswahlen bei
 der 4. bzw. 5. Orientierungsbewegung sind signi-
 fikant. ($\alpha = 0,025$ bzw. $\alpha = 0,05$).

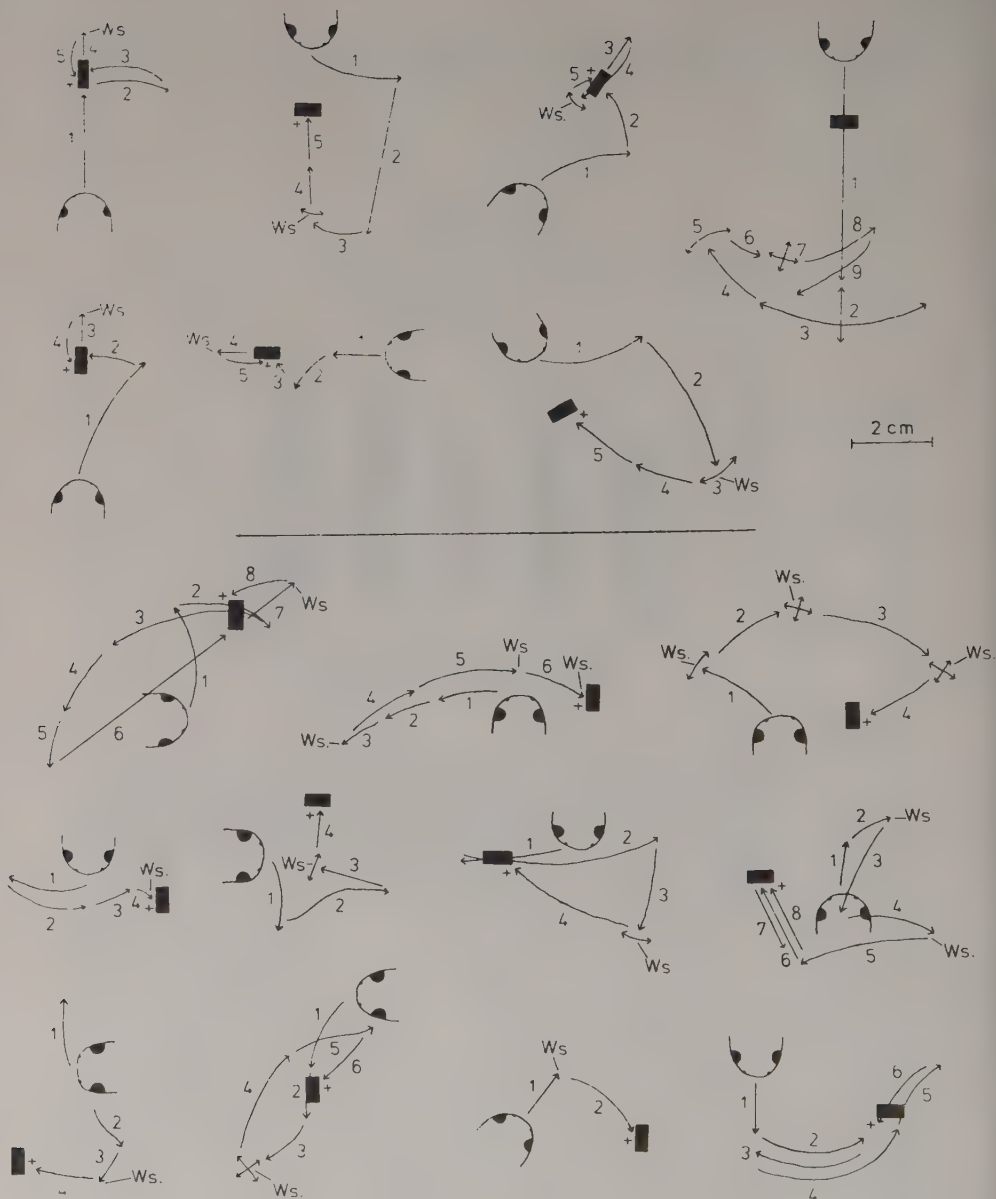


Abb. 34: Beispiele für olfaktorische Orientierung bei geringer Beuteentfernung.
Ws.: Witterstellung; **+**: Schnappreaktion; **Rechteck:** Beute; die Zahlen geben die Anzahl der Orientierungsbewegungen an.

3.6.2 Orientierung bei größerer Beuteentfernung

Bei der zweiten Versuchsserie zur olfaktorischen Orientierung wurden erheblich größere Beuteentfernungen gewählt, da anzunehmen ist, daß dies den normalen Verhältnissen beim olfaktorischen Beutefang näher kommt. Der Verhaltensablauf wurde auf Videoband festgehalten. Der Weg, den die Versuchstiere bei der Beutesuche einschlugen, wurde auf einer vor den Monitorbildschirm geklebten Folie nachgezeichnet. Die Verhaltensabläufe unter diesen Bedingungen sind insofern bemerkenswert, als zwei Drittel der Versuchstiere (66,6 %) nach anfänglichem Umherlaufen im Versuchsbehälter unvermittelt die Richtung änderten und sich danach direkt der Beute annähern, ohne daß vorher eine Witterstellung beobachtet werden konnte. Die Versuchstiere befanden sich dabei z.T. (s. Abb. 35 u. 36) in erheblicher Entfernung von der Beute. Bei einem Teil der Versuchstiere kam es zu einer Kombination von direkter Annäherung und Witterstellung (s. Abb. 36). Ab und zu war zu beobachten, daß nach Auftreten der Witterstellung in mehr als 3 cm Entfernung die Richtung zur Beute nicht gefunden wurde (s. Abb. 38 u. 39), während dies im Nahbereich der Beute wie bei der ersten Versuchsreihe fast immer der Fall war (s. Abb. 36 u. 40). Neben Witterstellung und direkter Annäherung wurde häufig beobachtet, daß die Versuchstiere während der Annäherung an die Beute den Kopf pendelnd hin und her bewegten oder mit dem Vorderkörper einen Zickzackweg einschlugen (s. Abb. 41, 42 u. 43). Alle genannten Verhaltensweisen traten auch in Kombination auf (s. Abb. 36 u. 43).

3.6.3 Versuche mit einem monorhinalen Versuchstier

Für die Klärung der Frage, ob Salamander auf Grund des Vorhandenseins eines bilateralen Geruchssystems Konzentrationsgradienten zwischen rechtem und linkem Nasenloch unterscheiden können, d.h. eine räumliche Geruchswahrnehmung haben, wurden Versuche mit einem monorhinalen Versuchstier durchgeführt. Dieses Versuchstier zeigte nach mehreren vergeblichen Versuchen, ein Nasenloch mit dem Gewebekleber

Histoacryl zu verschließen, eine erhebliche Entzündung der rechten Nasenhöhle, in deren Verlauf große Teile des Gewebes im Nasenhöhlenbereich einsmolzen. Nach erfolgter Heilung und teilweiser Regeneration war das rechte Nasenloch jedoch verschlossen. Dieses Tier war also einseitig geruchsblind und - wie die Verhaltensversuche zeigten - erheblich in seinem Beutefangverhalten gestört. Eine auf der rechten Seite des Tieres liegende Beute konnte nicht lokalisiert werden (s. Abb. 46, 47, 48, 49), obwohl der Geruch der Beute wahrgenommen wurde, was durch teilweise heftige Suchbewegungen zum Ausdruck kam. (s. Abb. 48). Die Beute wurde überhaupt nur gefunden, wenn sie sich auf der linken Seite in unmittelbarer Entfernung befand (Abb. 50 u. 51). Es muß betont werden, daß dieses Tier hungrig, d.h. motiviert war, was nicht nur durch die erwähnten Suchbewegungen zum Ausdruck kam, sondern auch dadurch, daß visuelle Beute, die jeweils nach den Versuchen gegeben wurde, stets genommen wurde.

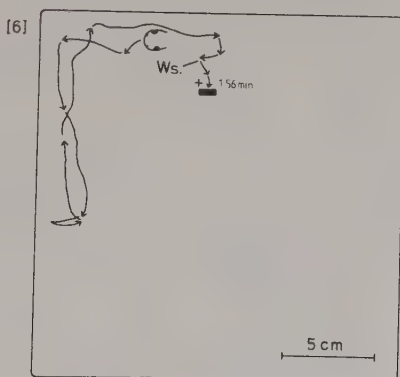
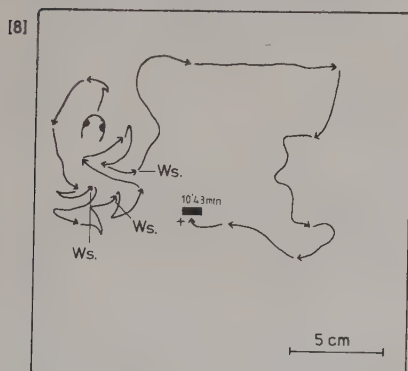
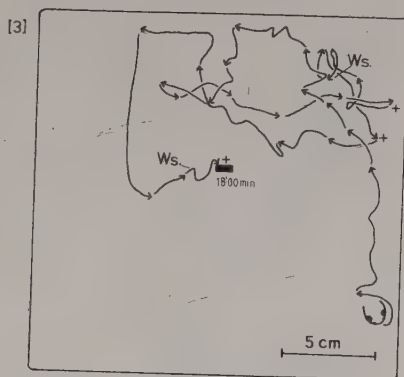
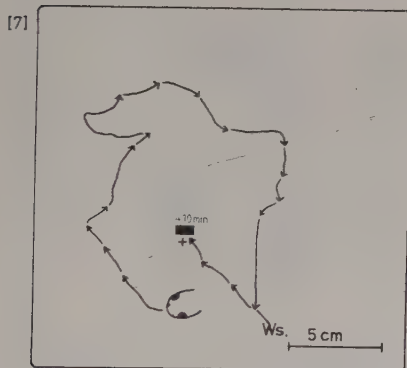
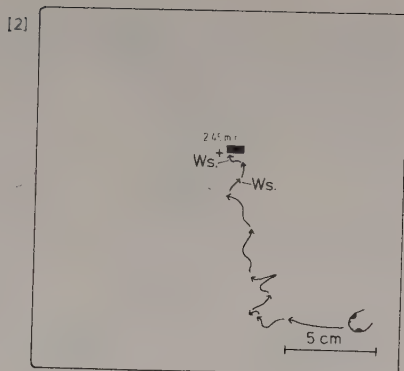
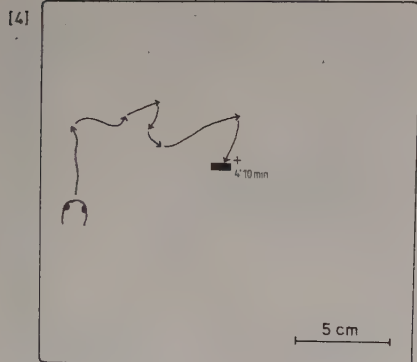


Abb. 35 - 40: Beispiele für olfaktorische Orientierung bei größerer Beuteentfernung.
Ws: Witterstellung; **+**: Schnappreaktion;
Rechteck: Beute

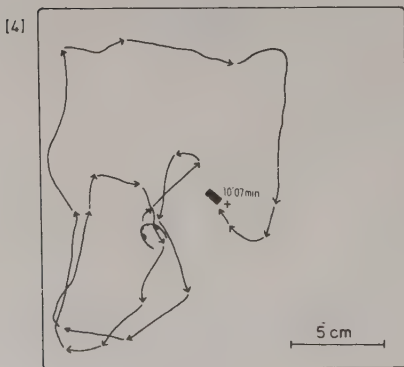
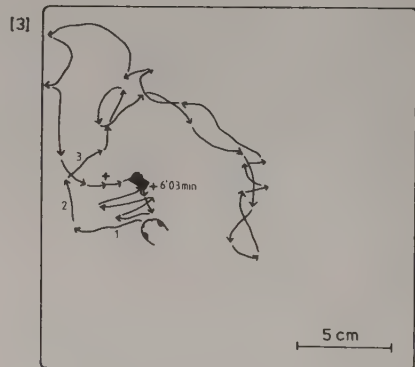
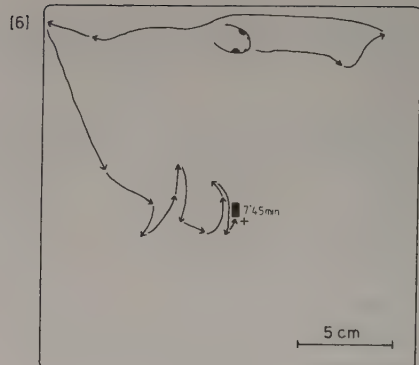


Abb. 41 - 45: Beispiele für olfaktorische Orientierung bei größerer Beuteentfernung. WS: Witterstellung +: Schnappreaktion; Rechteck: Beute

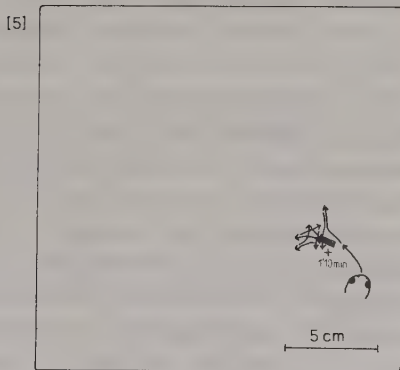
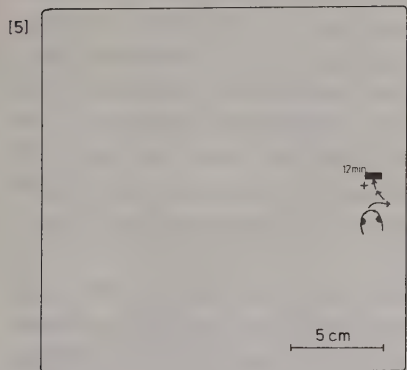
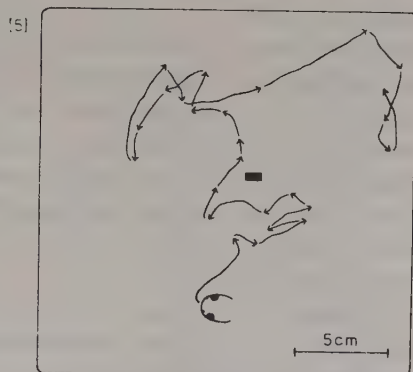
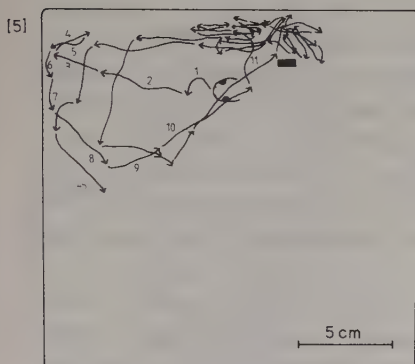
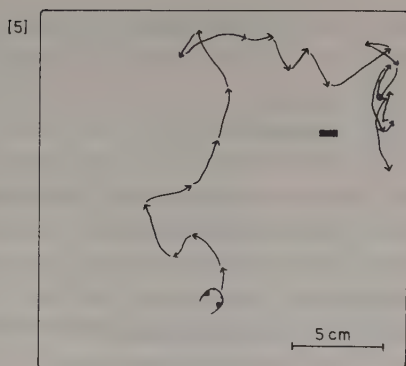
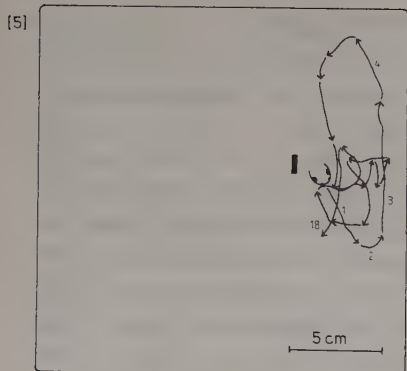


Abb. 46 - 51: Orientierung eines monorhinalen Tieres gegenüber Beutegeruch. (Zeichenerklärung s. Abb. 35 - 45).

3.7.1 Antworthäufigkeiten bei ipsi- und kontralateraler Reizung

Bei der Betrachtung der Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen sollte berücksichtigt werden, daß es hier nicht möglich war, die genauen Konzentrationen der verwendeten Beutegeruchsstimuli zu bestimmen. Es ist jedoch davon auszugehen, daß die Beutegerüche eine in etwa gleiche, relativ niedrige Konzentration hatten, während demgegenüber der artifizielle Geruchsreiz n-Hexanal erheblich höher konzentriert war.

Eine weitere Einschränkung ist dahingehend zu machen, daß die Anzahl der abgeleiteten Zellen bei Desmognathus ochrophaeus äußerst gering war und die bei dieser Art erzielten Resultate daher nicht sehr aussagekräftig sind. Die nachfolgende Darstellung der Ergebnisse wird sich daher im wesentlichen auf die Betrachtung der Antworteigenschaften der Neurone von Plethodon jordani und Hydromantes italicus konzentrieren.

Die Ergebnisse lassen sich hierbei wie folgt charakterisieren: Bei allen drei Salamanderarten antwortete ein hoher Prozentsatz der untersuchten Neurone bei ipsilateraler Reizung (s. Tab. 3 und Abb. 52 - 54). Die Antworthäufigkeiten schienen hierbei relativ unabhängig von der Art des verwendeten Stimulus zu sein. So wurde Grillen- und Regenwurmgeruch bei Ableitungen am Bulbus von Plethodon jordani wie bei Hydromantes italicus etwa gleich häufig beantwortet; n-Hexanal ergab allgemein etwas höhere Werte, was offenbar auf den Einfluss der erheblich höheren Konzentration dieses Geruchsstoffes zurückzuführen ist. Für Desmognathus ochrophaeus gilt das oben Gesagte.

Vergleicht man die Antworthäufigkeiten der Zellen bei Plethodon und Hydromantes, so zeigt sich, daß bei Hydromantes insgesamt gesehen weniger Zellen antworteten als bei Plethodon. Dies gilt in besonderem Maße für die Antworthäufigkeiten bei kontralateraler Reizung. Diese befinden sich bei allen drei Arten auf einem - verglichen mit den ipsilateralen Antworten - relativ niedrigem Niveau, d.h. der überwie-

gende Teil der untersuchten Neurone antwortete bei kontralateraler Reizung nicht. Zwischen den bei kontralateraler Reizung gemessenen Antworten von Plethodon und denen von Hydromantes ist jedoch ein auffälliger Unterschied zu beobachten, der die allgemeine Tendenz der ipsilateralen Antworten verstärkt wiederholt: Die Antworthäufigkeiten waren hier bei Plethodon 2 - 4 mal größer als bei Hydromantes (s. Tab. 3 u. Abb. 52 - 54). Inwieweit die Ergebnisse bei Desmognathus ochrophaeus tatsächliche Verhältnisse widerspiegeln, läßt sich wegen des unzureichenden Datenmaterials nicht sagen.

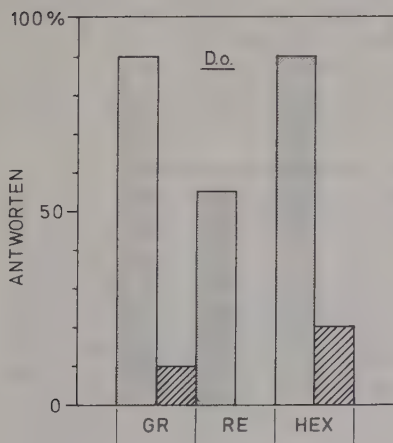
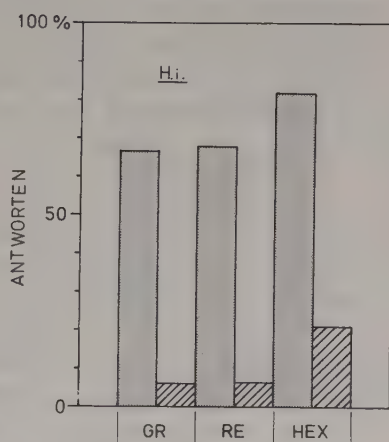
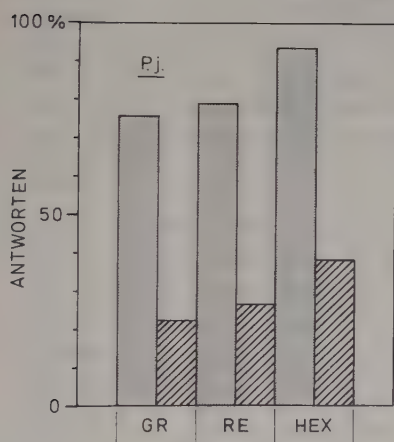


Abb. 52 - 54: Vergleich der Antworthäufigkeiten der Bulbus-Neurone von drei Salamanderarten bei ipsi- und kontralateraler Reizung.

Ipsilaterale Reizung: gepunktete Säule; kontralaterale Reizung: schraffierte Säule; GR: Reizung mit Grillengeruch; RE: Reizung mit Regenwurmgeruch; HEX: Reizung mit n-Hexanal.

3.7.2 Antworttypen

Die Einteilung der beobachteten Antworten in verschiedene Antworttypen folgt im wesentlichen der von Kauer (1974) vorgeschlagenen Klassifizierung, wobei jedoch Kauers E₃-Typ (s. Einleitung) außer Acht gelassen wurde, d.h. dieser Antworttyp wurde dem E₂-Typ (+ -> -) zugeordnet. Die verbleibenden Antworttypen wurden folgendermaßen bezeichnet: 1. Erregung (+); 2. Hemmung (-); 3. Erregung gefolgt von Hemmung (+ -> -); 4. Hemmung gefolgt von Erregung (- -> +). Die Identifikation der Antworttypen bezog sich dabei immer auf den Stimuluszeitraum und unmittelbar danach.

V-TIER	n	STIM.	SUMME(%)		ANTWORTTYPEN (%)							
					(+)		(-)		(+ -> -)		(- -> +)	
			i	c	i	c	i	c	i	c	i	c
P. j.	32	GR	75,0	22,6	70,8	57,1	8,3	14,1	20,8	28,3	-	-
	29	RE	79,3	26,6	79,2	62,5	8,3	25,0	12,5	12,5	-	-
	31	HEX	93,5	37,9	39,2	71,4	3,6	14,3	57,1	14,3	-	-
H. i.	50	GR	67,3	6,1	24,3	100,0	18,9	-	45,9	-	10,8	-
	47	RE	68,7	6,5	21,7	25,0	18,5	50,0	49,5	25,0	9,3	-
	46	HEX	82,9	21,3	15,4	64,3	17,9	35,7	51,3	-	15,4	-
D. o.	10	GR	90,0	10,0	22,2	100,0	33,3	-	44,4	-	-	-
	9	RE	55,5	-	40,0	-	40,0	-	20,0	-	-	-
	10	HEX	90,0	20,0	22,2	-	11,1	100,0	66,6	-	-	-

Tab. 3: Vergleich der Häufigkeiten der Antworttypen (n = Anzahl der abgeleiteten Zellen; i = ipsilaterale, c = kontralaterale Reizung)

Ein Vergleich der Zahlenwerte in Tab. 3 zeigt bei den ipsilateralen Antworttypen deutliche Unterschiede zwischen Plethodon jordani und Hydromantes italicus. Bei Plethodon waren (+)-Antworten häufig und (-)-Antworten selten, während bei Hydromantes beide Antworttypen gleichermaßen selten auftraten. Dafür waren hier aber die (+ -> -)-Antworten erheblich

stärker vertreten als bei Plethodon. Ein weiterer Unterschied ist darin zu sehen, daß bei Hydromantes (- → +)-Antworten zu beobachten waren, diese fehlten bei Plethodon (s. a. Abb. 55). (Die Zahlenwerte der einzelnen Antworttypen beziehen sich auf die Summe aller Typen, wobei diese jeweils gleich 100 % gesetzt wurde.)

Vergleicht man die Antworthäufigkeiten der einzelnen Antworttypen bezüglich der verwendeten Stimuli, so ist festzustellen, daß zwischen Grillen- und Regenwurmgeruch bei beiden Arten kaum Unterschiede bestanden. Die Verwendung von n-Hexanal als Stimulus führte dagegen bei Plethodon zu einer deutlich andersartigen Verteilung der Antworthäufigkeiten als die übrigen Stimuli (s. Abb. 55). Diese gleicht der allgemeinen Verteilung bei Hydromantes, wo hinsichtlich der Antworthäufigkeiten zwischen den verwendeten Stimuli insgesamt gesehen wenig Unterschiede auftraten.

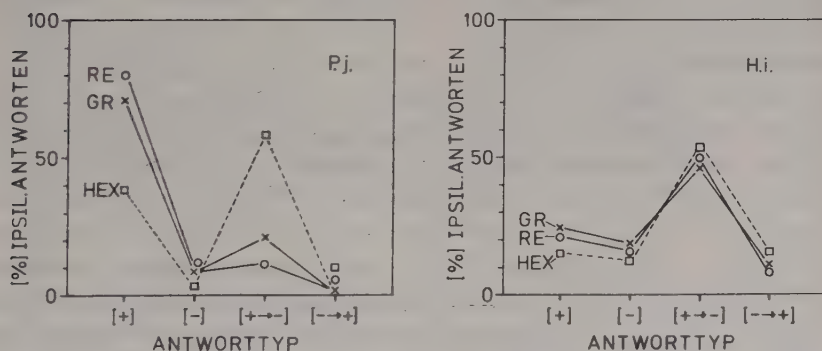


Abb. 55: Vergleich der Antworttypenhäufigkeit bei Plethodon jordanii und Hydromantes italicus. (Abkürzungen s. Abb. 52 - 54. Erläuterungen zu den Antworttypen s. Text.)

Die bei kontralateraler Reizung beobachteten Antworttypen müssen unter dem Vorbehalt betrachtet werden, daß hier, besonders bei Hydromantes, die Anzahl der gemessenen Antworten gering war. Die in Tab. 3 aufgeführten Werte sind daher möglicherweise nicht sehr aussagekräftig. Immerhin fällt bei Plethodon - wo erheblich mehr Zellen bei kontralateraler Reizung antworteten als bei Hydromantes - die ziemlich gleichförmige Verteilung der Antworthäufigkeiten zwi-

schen den verschiedenen Stimuli auf, während bei Hydromantes größere Unterschiede zu beobachten sind, die jedoch wahrscheinlich auf die hier äußerst geringe Anzahl von Meßwerten zurückzuführen sind. Allgemein ist bei den kontralateralen Antworten ein starkes Vorherrschen des (+)-Antworttyps festzustellen. Überdies war auffällig, daß die untersuchten Neurone von Hydromantes bei kontralateraler Reizung mit Grillengeruch ausschließlich mit dem (+)-Typ antworteten.

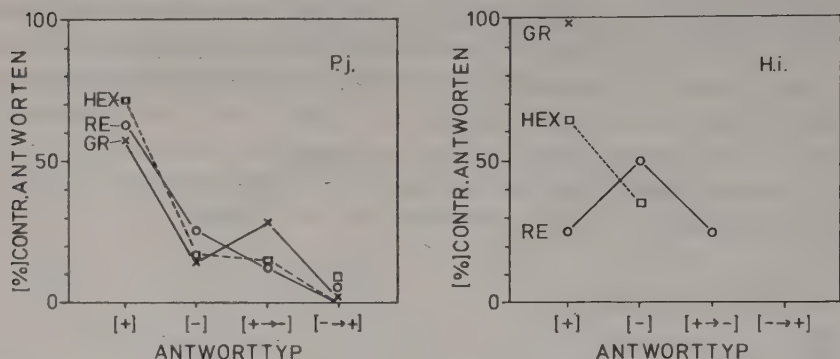


Abb. 56: Vergleich der bei kontralateraler Stimulation gemessenen Antworttypenhäufigkeiten bei *Plethodon jordani* und *Hydromantes italicicus* (Abk. s. Abb. 52 - 54. Erläuterungen zu den Antworttypen s. Text.)

Auf die Darstellung der bilateralen Antworten wurde in Tab. 3 verzichtet, da diese in bezug auf die Antwortcharakteristik weitgehend mit den ipsilateralen Antworten identisch waren. Dies gilt auch für den Vergleich ipsi- und kontralateraler Antworten.

Entgegengesetzte Antworttypen (z.B. ipsil. (+) und kontral. (-)) konnten kaum jemals beobachtet werden. Bei den wenigen Ausnahmen von dieser Regel schien die kontralaterale Antwort keinen Einfluß auf den resultierenden bilateralen Antworttyp zu haben. Überhaupt war der kontralaterale Einfluß bis auf wenige noch zu diskutierende Ausnahmen sowohl in bezug auf die Antwortstärke und insbesondere auf die Antwortcharakteristik der bilateralen Antworten gering oder überhaupt nicht feststellbar.

3.7.3 Antwortintensitäten

Es wurden die Antworteigenschaften hinsichtlich der Antwortstärken bei ipsi-, kontra- und bilateraler Reizung verglichen. Um ein Maß für die Antwortstärke zu erhalten, wurden die Antworten hierbei je nach Anzahl der Spikes (d.h. gesamte Impulsanzahl während der Reizung) in Klassen von 0; 0,5; 1,0 3,0 eingeteilt. Dabei wurden nur die Antworttypen (+) und (+ -> -) berücksichtigt, da rein inhibitorische Antworten in ihrer Intensität und Dauer oft schwer zu beurteilen waren.

Bei Zellen, die bei kontralateraler Stimulation nicht antworteten, zeigte sich hier bei Plethodon eine weitgehende Übereinstimmung in der Summe der ipsi- und bilateralen Antwortstärken bei allen Stimuli, obwohl nur etwa ein Drittel der Antworten hinsichtlich der Antwortstärken genau identisch waren (s. Tab. 4). Bei Hydromantes war der Prozentsatz identischer ipsi- und bilateralen Antwortstärken erheblich größer; auch hier waren die Unterschiede zwischen ipsi- und bilateralen Antworten eher gering. Insgesamt gesehen waren die Antwortintensitäten bei Hydromantes niedriger als bei Plethodon, was wohl überwiegend mit der aus Abb. 55 ersichtlichen Antworttypenverteilungen zusammenhängt, da mit zunehmender Anzahl und Ausprägung der (+ -> -)-Antworttypen der exzitatorische Anteil zugunsten des inhibitorischen abnahm.

Vergleicht man die oben dargestellten Intensitätsverhältnisse mit denen, die bei vorhandener kontralateraler Antwort auftraten, so ergibt sich bei Plethodon folgendes Bild: Während bei bilateralen Antworten ohne kontralaterale Beteiligung die Antwortstärken aller Werte geringfügig unter den ipsilateralen Intensitäten lagen, so sind jetzt bei vorhandenem kontralateralem Einfluß bilateral alle Werte etwas größer als bei ipsilateraler Reizung. Darüberhinaus zeigte sich, daß die kontralateralen Antwortstärken in der Summe erheblich schwächer waren als ipsi- und bilaterale. Der Prozentsatz identischer Antwortstärken liegt hier bei etwa 50 %.

Die Zahlenverhältnisse bei Hydromantes unterschieden sich hiervon teilweise beträchtlich. Zum einen waren die ipsila-

teralen Antwortstärken gegenüber denen von Zellen ohne kontralaterale Antwort von vorneherein erheblich erhöht, zum anderen lagen die bilateralen Antworten in ihrer Intensität noch einmal erheblich über den ipsilateralen Antwortstärken. Dies gilt für alle Stimuli, besonders aber für Grillen- und Regenwurmgeruch. Für n-Hexanal sind in Tab. 4 jeweils zwei Werte aufgeführt. Der erste Wert umfaßt sämtliche untersuchten Zellen; bei dem Wert in Klammern wurden die Antwortstärken zweier Zellen nicht berücksichtigt, deren Antwortverhalten sehr untypisch war. Die Möglichkeit, daß es sich hierbei um Artefakte handelte, kann nicht ausgeschlossen werden.

Vergleicht man die Summation ipsi- und kontralateraler Antwortstärken bei Plethodon und Hydromantes, so zeigt sich, daß die bilateralen Antworten bei Plethodon jordanii subadditiv waren. Identische ipsi- und bilaterale Antwortstärken waren bei Hydromantes bei Grillen- und Regenwurmgeruch nicht zu beobachten; bei Reizung mit n-Hexanal betrug der Prozentsatz 66,6 bzw. 50,0 %.

V-TIER	STIM.	ANTWORTSTÄRKEN der ANTWORTSTYPEN (+) und (+ - -)							
		keine kontral. Antwort				kontral. Antwort vorhanden			
		$\bar{x}$		% ident. Antwortst.	$\bar{x}$		% ident. Antwortst.		
		d. Klassen 0/0,5/...3,0 i b			der Klassen 0/0,5/...3,0 i c b				
P. j.	GR	1,06	0,81	25,0	0,90	0,50	1,00	40,0	
	RE	0,78	0,71	42,0	0,90	0,33	1,10	40,0	
	HEX	1,13	1,09	36,3	1,25	0,38	1,35	60,0	
H. i.	GR	0,67	0,70	60,0	1,25	0,25	2,00	0,0	
	RE	0,63	0,75	72,0	1,00	0,33	2,16	0,0	
	HEX	0,52	0,55	72,0	1,75	1,20	2,08	66,6	
					*1,12	*0,37	*1,62	*50,0	
D. o.	GR	0,50	0,37	75,0	-	-	-	-	
	RE	0,50	0,25	50,0	-	-	-	-	
	HEX	0,58	0,50	83,3	-	-	-	-	

Tab. 4: Vergleich der Antwortstärken
(i = ipsilat., c = kontralat., b = bilat. Reizung)

Bei der Beurteilung aller Werte ist jedoch stets der geringe Umfang des Datenmaterials besonders bei den kontralateralen Antworten zu berücksichtigen. Aus diesem Grund soll, wie schon vorher, auf die Werte von Desmognathus - wo noch weniger Daten vorhanden waren - nicht weiter eingegangen werden.

3.7.4 Antwortmuster

Die folgende Darstellung und Beschreibung einiger Antwortmuster soll die Charakteristika der erwähnten Antworttypen verdeutlichen, den Einfluß kontralateraler Faserverbindungen aufzeigen und darüber hinaus deutlich machen, daß die auftretenden Antwortmuster bei Berücksichtigung der poststimulären Impulsraten häufig komplexer waren, als dies durch das verwendete Klassifizierungsschema zum Ausdruck gebracht wird. Wie erwähnt, zeigte, besonders bei Hydromantes, der überwiegende Teil der untersuchten Zellen, bei kontralateraler Reizung keine sichtbare Beeinflussung der Spontanaktivitätsrate; ipsi- und bilaterale Antworten waren daher häufig identisch. Ein Beispiel hierfür zeigt die Abb. 57. Das untersuchte Neuron reagierte bei Reizung mit Regenwurmgeruch mit einer ausgeprägt inhibitorischen Antwort ((-)-Typ), wobei die ipsi- und bilateralen Antworten genau gleich waren, während bei kontralateraler Reizung keine Veränderung der Spontanaktivität auftrat.

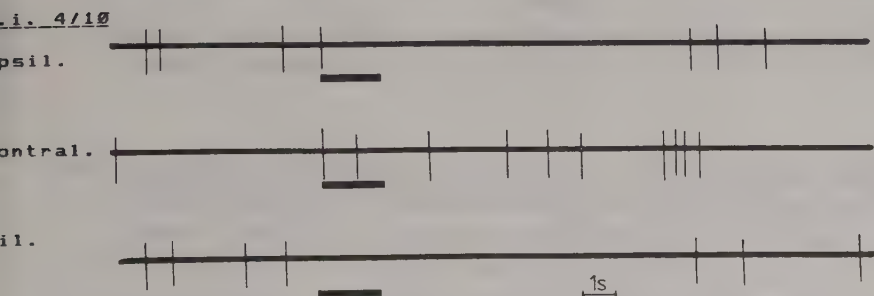


Abb. 57: Inhibitorische Antwort eines Neurons bei Reizung mit Regenwurmgeruch. Zeitpunkt d. Reizbeginns und Dauer des Reizes sind durch die Markierung unterhalb der Ableiturspur angezeigt.

Viele Zellen, die bei allen drei Stimuli antworteten, unterschieden zwischen den verwendeten Geruchsreizen. (Hierbei blieb jedoch das schon anfangs angesprochene Problem des Einflusses unterschiedlicher Konzentration der Stimuli ungeklärt). So antwortete das in Abb. 58 dargestellte Neuron bei bilateraler Reizung mit Regenwurmgeruch während der Reizdauer mit einer leichten Erhöhung der Entladungsrate. Nach Reizeinwirkung blieb die Aktivitätsrate etwas erhöht, wobei die Impulsfrequenz sehr regelmäßig wurde. Bei Stimulation mit Grillengeruch folgte auf eine unregelmäßige Exzitation eine deutliche Hemmung der Impulsrate. Danach war die Entladungsfrequenz wiederum erhöht und in der Sequenz ziemlich regelmäßig. Bei Reizung mit n-Hexanal überwog bei dem dargestellten Neuron der inhibitorische Antwortcharakter; hier schloß sich an die Hemmung ebenfalls eine Phase erhöhter Spontanaktivität mit jedoch unregelmäßiger Impulsfrequenz an.

H.1. 6/6

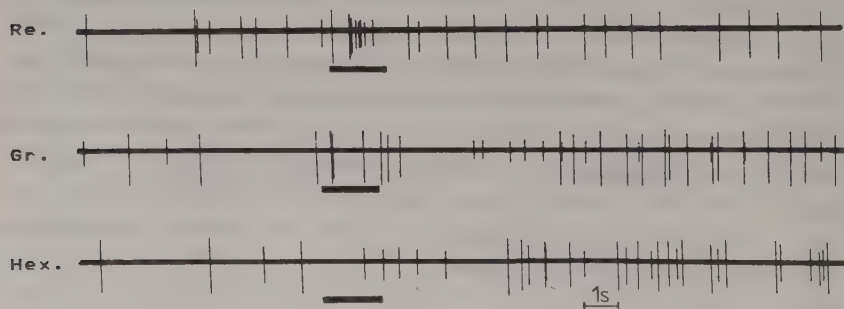


Abb. 58: Unterschiedliches Antwortverhalten einer Zelle bei bilateraler Reizung mit verschiedenen Stimuli.

Dieser Effekt, bei dem sich Spontanaktivitätsrate bzw. die Impulssequenz nach dem Stimulus für eine gewisse Zeit änderte, konnte häufiger beobachtet werden (s.a. Abb. unten).

Ein weiteres Beispiel unterschiedlichen Antwortverhaltens ist in Abb. 59 wiedergegeben. Das hier untersuchte Neuron antwortete bei Reizung mit Regenwurmgeruch schwach exzitatorisch, während bei Verwendung von n-Hexanal der Antworttyp (- -> +) zu beobachten war.

H.i. 2/5

Re.



Hex.



Abb. 59: Entgegengesetzte Antworttypen bei ipsilateraler Reizung mit unterschiedlichen Stimuli

Eine Reihe von Zellen zeigte über einen längeren Zeitraum nach Stimulusende konstante, charakteristische Entladungsmuster. Zwei Beispiele hierfür sind in den Abb. 60 und 61 dargestellt.

Die meisten der untersuchten Zellen waren bei genügendem zeitlichen Abstand zwischen zwei Reizen sehr konstant in bezug auf ihre Antwortcharakteristik, wobei jedoch oft bei der zweiten und dritten Stimulation die Antworten auf Grund von Adaptionerscheinungen etwas schwächer ausfielen.

H.i. 4/2

Gr.



dto.



Abb. 60: Antwortmusterkonstanz

Hex.



dto.



Abb. 61: Antwortmusterkonstanz

In beiden Abbildungen sind jeweils zwei aufeinanderfolgende Stimulationen dargestellt.

Diese Antwortmusterkonstanz bestand jedoch nicht immer. So zeigte das in Abb. 62 dargestellte Entladungsmuster des Neurons H.i. 6/1 eine von einer Stimulation zur nächsten ansteigende poststimuläre Impulsrate, die jedoch immer wieder auf die Rate der ursprünglichen Spontanaktivität zurückging.

H.i. 6/1

Re.



dto.



dtu.



Abb. 62: Erhöhung der Impulsfrequenz nach drei aufeinanderfolgenden Geruchapplikationen

Kontralaterale Antworten hatten, wie schon erwähnt, in den meisten Fällen keinen sichtbaren Einfluß auf die bilaterale Antwortcharakteristik (s.a. Tab. 4). Die Abb. 63 zeigt hierfür ein Beispiel. Bei ipsi- und kontralateraler Reizung traten hier deutliche (+)-Antworten auf, wobei bei kontralateraler Reizung eine auffallend lange Latenz zu beobachten war. In der bilateralen Antwort wurden ipsi- und kontralaterale Einflüsse jedoch nicht summiert oder in anderer Weise verrechnet; das bilaterale Impulsmuster gleicht daher völlig

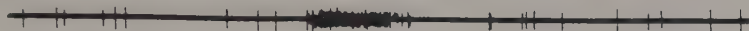
dem ipsilateralen.

H.i. 8/1

Hex. ipsil.



kontral.



bil.



Abb. 63: Exzitatorische Antwort eines Neurons, bei dem die kontralaterale Antwort keinen Einfluß auf das bilaterale Antwortverhalten hatte

3.7.5 Kontralaterale Einflüsse

Vor allem bei Hydromantes waren jedoch einige Fälle zu beobachten, bei denen kontralaterale Einflüsse zu bemerkenswerten Veränderungen bilateraler Antwortmuster führten. Dies wird deutlich an den Impulsmustern der Neurone H.i. 9/4 und H.i. 4/6 (Abb. 64 bzw. Abb. 65), die auf alle drei Stimuli antworteten. Das Neuron H.i. 9/4 reagierte während ipsilateraler Stimulation mit Grillengeruch mit einer Erhöhung der Entladungsrate. Bei kontralateraler Reizung war nach langer Latenz eine äußerst schwache, kaum sichtbare exzitatorische Antwort festzustellen. Bei bilateraler Stimulation war die Impulsrate, ähnlich wie bei der ipsilateralen Antwort, kräftig erhöht, wobei die bilaterale Antwort jedoch etwas länger andauerte und ausgeprägter war. Reizung mit Regenwurmgeruch hatte ein ähnliches Antwortverhalten zur Folge, nur waren die ipsi- und kontralateralen Antworten hier noch schwächer und daher - besonders bei kontralateraler Reizung - kaum noch zu erkennen. Die bilaterale Antwort war dagegen stärker ausgeprägt und länger andauernd als bei bilateraler Stimulation mit Grillengeruch. Ipsilaterale Reizung mit n-Hexanal führte zu einem kurzen Antwortburst, gefolgt von einer längeren Hemmung ((+ -> -)-Antwort). Die auf kontralaterale Stimulation erfolgende

Antwort war hier stärker als bei den übrigen Stimuli, während die Antwort bei bilateraler Reizung etwas schwächer und kürzer als bei Grillen- und Regenwurmgeruch war. Nach Stimulusende war die Spontanaktivität wiederum über einen längeren Zeitraum gehemmt. Auch hier war bei kontralateraler Reizung eine ausgeprägte Latenz zu beobachten.

H.i. 9/4

Hex. ipsil.

dto. kontral.

dto. bil.

Re. ipsil.

dto. kontral.

dto. bil.

Gr. ipsil.

dto. kontral.

dto. bil.

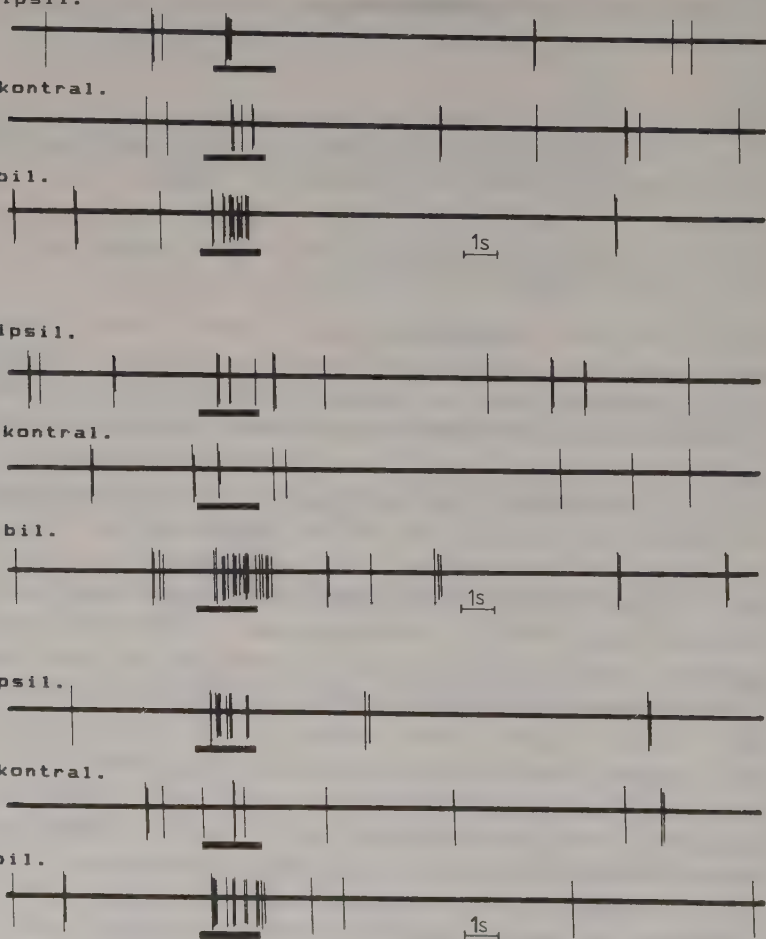


Abb. 64: Komplexes Antwortverhalten des Neurons H.i. 9/4

Ein ähnliches Antwortverhalten zeigte das Neuron H.i. 4/6 (s. Abb. 65). Bei Reizung mit Grillen- bzw. Regenwurmgeruch waren hier durchweg rein exzitatorische Antworten festzustellen. Hierbei waren die Antworten bei bilateraler Reizung wiederum erheblich stärker ausgeprägt als bei ipsilateraler Stimulation und bei Verwendung von Regenwurmgeruch länger andauernd als bei Grillengeruch. Bei Stimulierung mit n-Hexanal traten die Antworten mehr in Form kurzer "burst's" auf, denen zumindest ipsilateral eine kurze Hemmung folgte. Zu bemerken ist, daß hier die kontralateralen Latenzen etwas kürzer waren als bei dem Neuron H.i. 9/4.

H.i. 4/6

Gr. ipsil.



dto. kontral.



dto. bil.



Re. ipsil.



dto. kontral.



dto. bil.



Hex. ipsil.



dto. kontral.



dto. bil.



Abb. 65: Überadditive Antwortmuster eines Neurons bei bilateraler Reizung mit unterschiedlichen Stimuli

Ein weiteres Beispiel mit einer ähnlichen Antwortcharakteristik zeigt Abb. 66. Auch hier setzte sich die bei bilateraler Reizung zu beobachtende Antwort aus einer Addition ipsi- und kontralateraler Einflüsse zusammen. Während jedoch die bilateralen Antworten der Zellen H.i. 9/4 u. H.i. 4/6 teilweise ausgeprägt überadditiv waren, bestand hier die bilaterale Antwort aus einer einfachen Summation der ipsi- und kontralateralen Impulsraten.

H.i. 4/3

Re. ipsil.



dto. kontral.



dto. bil.

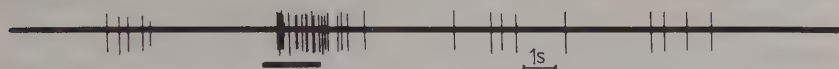


Abb. 66: Summation ipsi- und kontralateraler Antworten bei bilateraler Reizung

Antworttypen, die aus derartigen Additionen ipsi- und kontralateraler Antworten bestanden, wurden bei Plethodon trotz des erheblich höheren Anteils kontralateraler Antworten (s. Tab. 3 und Abb. 52) selten gefunden. Abb. 66 zeigt eine der wenigen Ausnahmen. Bei dieser Aufnahme wurden die Impulsmuster zweier entgegengesetzt antwortender Zellen registriert. Hier addierten sich die ipsi- und kontralateralen Antworten des "kleinen" Neurons, während bei dem anderen Neuron, das gehemmt wird, kein kontralateraler Einfluß festzustellen war.

Re. ipsil.

dto. kontral.

dto. bil.

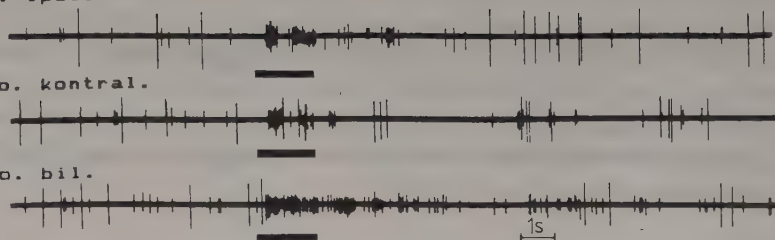


Abb. 67: Summation ipsi- und kontralateraler Antworttypen bei Plethodon jordani. In der Abbildung sind die Impulsmuster zweier Zellen wiedergegeben, wobei die "größere" bei Reizapplikation gehemmt wird, während die "kleinere" exzitatorisch reagiert. Ipsi- und kontralaterale Impulsraten werden hier bei bilateraler Reizung addiert.

Gelegentlich wurden Antworten registriert, bei denen der kontralaterale Anteil nur aus einem einzigen großen Impuls bestand, der bilateral zu der ipsilateralen Antwort addiert wurde (Abb. 68). Es konnte nicht geklärt werden, ob es sich hierbei um Antworten benachbarter Zellen handelte.

Hex. ipsil.

dto. kontral.

dto. bil.



Abb. 68: Aus einem Impuls bestehendes kontralaterales Antwortmuster

Rein inhibitorische Antworttypen waren allgemein selten (s. Tab. 3 und Abb. 55). Traten hierbei kontralaterale Antworten auf, so waren diese, wie auch in fast sämtlichen anderen Fällen, gleichsinnig mit der ipsilateralen Antwort, d. h.

auch inhibitorisch. Bei der resultierenden bilateralen Antwort schien jedoch der inhibitorische Antwortcharakter meist vermindert zu sein (Abb. 69).

P.i. 1/9

Hex. ipsil.



dto. kontral.



dto. bil.



1s

Abb. 69: Verminderung inhibitorischer Antworten bei bilateraler Geruchsreizung

IV. DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit stellt eine Untersuchung verschiedener Eigenschaften des Geruchssinnes am Beispiel der olfaktorischen Funktionen von Salamandern dar. Die Untersuchungen erstreckten sich hierbei auf drei Bereiche:

1. die Reizebene (biochemischer Teil der Untersuchung)
2. das Verhalten (biochem. und verhaltensbiologischer Teil)
3. die neuronalen Funktionen (elektrophysiologischer Teil)

Die Untersuchungen im Rahmen des biochemischen Teils hatten zum einen die chemische Analyse eines verhaltensrelevanten Geruchs zum Ziel. Zum anderen sollten durch Verhaltensversuche die Beziehungen zwischen der chemischen Zusammensetzung und der Verhaltenswirksamkeit des untersuchten Geruchs aufgeklärt werden. Der verhaltensbiologische Teil der vorliegenden Arbeit hatte die Lernfähigkeit gegenüber Geruchsreizen zum Gegenstand. Darüberhinaus wurden die Orientierungsleistungen von Salamandern gegenüber einer Geruchsquelle untersucht. Die elektrophysiologischen Untersuchungen schließlich befaßten sich mit den möglichen Beziehungen zwischen verhaltensrelevanten Geruchsreizen und dem Antwortverhalten der sekundären Neurone des Geruchssystems. Ein weiterer Untersuchungspunkt waren hier die Einflüsse interbulbarer Faserverbindungen auf neuronale Antwortmuster. Allgemein war es eine der Absichten der vorliegenden Arbeit Zusammenhänge zwischen den oben genannten Untersuchungsbereichen sichtbar werden zu lassen.

4.1 BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

Die biochemischen Untersuchungen hatten zusammengefaßt zu folgenden Ergebnissen geführt:

1. GC / MS-Analyse

- es konnte nachgewiesen werden, daß der untersuchte Beutegeruch aus einer größeren Anzahl chemischer Verbindungen bestand,
- diese bildeten bei der gaschromatographischen Analyse ein charakteristisches Peakmuster, das über einen längeren Beobachtungszeitraum konstant blieb,

- bei den durch kombinierte GC/MS-Analyse identifizierten Verbindungen handelte es sich neben 2-Heptanon und 2-Pentyl-Furan um eine Reihe niedermolekularer, gradkettiger Aldehyde im Bereich von C₃-C₇,
- die gefundenen Aldehyde waren die Hauptkomponenten des untersuchten Gemischs.

2. Verhaltenswirksamkeit der Proben

- die gaschromatographisch untersuchten Proben hatten hohe, mittlere und geringe Verhaltenswirksamkeiten.
- die Peakmuster der Gaschromatogramme korrelierten hierbei mit der jeweiligen Verhaltenswirksamkeit, wobei diese umso höher war, je mehr sich die Probenpeakmuster der Peakverteilung in GFP-Chromatogrammen annäherten,
- auch sehr geringe Peakmusteränderungen hatten nachweisbare Verhaltensveränderungen zur Folge.

Ein wichtiges Ergebnis des biochemischen Teils der vorliegenden Untersuchungen war, daß die Extraktproben, die mit unterschiedlichen Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelmischungen aufbereitet worden waren, bei der gaschromatographischen Analyse unterschiedliche Peakmuster zeigten. Hierbei unterschieden die verschiedenen Proben sich nur wenig hinsichtlich ihrer qualitativen Zusammensetzung, umso mehr dagegen in Bezug auf die quantitativen Verhältnisse der Komponenten. D.h. in allen Proben fanden sich in etwa die gleichen chemischen Verbindungen, deren Einzelkonzentration - ausgedrückt durch die relativen Peakhöhen - sich jedoch, je nach Art des verwendeten Lösungsmittels, mehr oder weniger stark voneinander unterschieden. Die hierbei auftretenden unterschiedlichen Peakverteilungen befanden sich allerdings im Rahmen dessen, was aufgrund der jeweiligen Lösungsmittelpolaritäten zu erwarten war. So erklärt sich z. B. das verstärkte Auftreten der früh erscheinenden Peaks bei Verwendung von Diethylether zur Probenaufbereitung damit, daß der unpolare Charakter dieses Lösungsmittels nicht sehr ausgeprägt ist und daß daher in verstärktem Umfang polare Verbindungen gelöst werden. Diese sind in den meisten Fällen niedermolekular und sollten daher - auch aufgrund des unpolaren Cha-

rakters der verwendeten Trennsäule - in den Chromatogrammen früh in Erscheinung treten. Bei Verwendung des Lösungsmittels Methylenchlorid, dessen Ladungsverhältnisse in stärkerem Maße unpolar sind, war das Gegenteil der Fall; hier wurden die spät erscheinenden Peaks verstärkt. Der durch Mischung beider Lösungsmittel erzielte Ausgleichseffekt ist in Zusammenhang mit der Beurteilung der biologischen Aktivität der Proben nicht unwichtig.

Bei der Untersuchung der Verhaltenswirksamkeiten der Proben zeigten sich Korrelationen zwischen dem chromatographischen Erscheinungsbild einer Probe und der jeweiligen Verhaltenswirksamkeit. Die einzelnen Proben hatten umso höhere Verhaltenswirksamkeiten, je mehr sich die Peakverteilung einer Probe dem Peakmuster der GFP-Probe annäherte. Hohe Verhaltenswirksamkeiten wurden also nur bei Proben erzielt, die bestimmte qualitativ-quantitative Peakmuster aufwiesen.

Die Tatsache, daß quantitative Veränderungen der Komponentenverhältnisse verminderte Verhaltenswirksamkeiten zur Folge hatten, legt den Schluß nahe, daß die Identifikation des verwendeten Beutegeruchs nicht anhand einer bestimmten Leitsubstanz erfolgte. Wäre dies der Fall gewesen, so hätte man die beobachteten unterschiedlichen Verhaltenswirksamkeiten der verschiedenen Proben nur schwer erklären können, da in allen Proben die gleichen chemischen Verbindungen vorhanden waren. Dieses Ergebnis läßt also auf eine multikomponente Geruchswahrnehmung und Beuteidentifikation schließen.

Hierfür sprechen insbesondere auch die Ergebnisse der Versuche mit schwach verändertem Beutegeruch (s. Kap. 3.4). Hierbei war im wesentlichen nur eine der Hauptkomponenten (n-Heptanal) quantitativ verändert worden. Die Tatsache, daß selbst diese eher geringfügige Veränderung wahrgenommen wurde - was hier durch die Verlängerung der Fixierzeiten zum Ausdruck kam - ist ein wichtiges Indiz für eine Geruchsidentifikation anhand des Gesamtmusters aller oder zumindest des überwiegenden Teils der Komponenten. Eine Identifikation anhand einer einzelnen Leitsubstanz erscheint hier ebenso unwahrscheinlich wie eine Geruchserkennung anhand einiger weniger Bestandteile. Dies wird deutlich, wenn man einmal annimmt, daß die Verbindung n-Heptanal zufällig eine aus einer begrenzten Anzahl von Leitsubstanzen gewesen wäre. In

diesem Falle wäre die quantitative Veränderung dieser Verbindung im Gesamtverhältnis der wenigen Leitsubstanzen stark ins Gewicht gefallen und hätte daher eine erheblich deutlichere Verminderung der Verhaltenswirksamkeit zur Folge gehabt, als dies zu beobachten war. Wenn jedoch die erwähnte Verbindung nicht zu einer Gruppe von Leitsubstanzen gehört hätte, so wären andererseits auch keine Veränderungen der Verhaltenswirksamkeit zu beobachten gewesen. Die erwähnten Befunde, bei denen geringfügige quantitative Komponentenveränderung mit ebenso geringfügigen Veränderungen der Verhaltenswirksamkeit korrelierten, sind jedoch dann leicht zu erklären, wenn man von der Annahme ausgeht, daß jedwede Veränderung der Komponentenverhältnisse - sofern diese über ein bestimmtes Maß hinausgeht - wahrgenommen wird und damit zu einer Verminderung der Verhaltenswirksamkeit führt.

Diese Überlegungen stimmen gut mit den Untersuchungsergebnissen verschiedener anderer Autoren überein, bei denen ähnliche Problemstellungen mit vergleichbaren Methoden behandelt wurden. So konnten Atema et al. (1980) nachweisen, daß Thunfische (Thunnus albacares) sehr genau zwischen den unterschiedlichen Aminosäureprofilen im Geruch verschiedener Beutetierarten unterscheiden. Chemische Fraktionen der untersuchten Beutegerüche waren ebenso wie synthetische Mischungen der identifizierten Aminosäuren erheblich weniger verhaltenswirksam als die vollständigen, natürlichen Geruchszusammensetzungen.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Eppler et al. (1979) bei Untersuchungen an Tamarinen (Sanguinus fuscicollis). Diese soziallebenden Primaten benutzen komplexe Mischungen verschiedener chemischer Verbindungen, die als Duftsekrete von Hautdrüsen abgesondert werden, zur Identifizierung der Individuen innerhalb einer Gruppe und zur Unterscheidung der verschiedenen Subspezies. Dabei wird der Geruch der eigenen Unterart von den Tieren bei Wahlversuchen stets gegenüber dem Geruch anderer Unterarten bevorzugt. Die unterschiedlichen Geruchszusammensetzungen der verschiedenen Subspezies kamen dabei nicht so sehr durch qualitative Veränderungen, sondern in weitaus stärkerem Umfang durch Veränderungen der quantitativen Verhältnisse der Komponenten zustande. Die

Autoren konnten als Inhaltsstoffe der Drüsensekrete neben dem Isoprenederivat Squalen eine Reihe von Fettsäureestern feststellen, wobei der Gewichtsanteil der identifizierten Verbindungen insgesamt 96 % der untersuchten Proben betrug. Die übrigen 4 Gewichtsprozent konnten nicht identifiziert werden. Mit Hilfe der nachgewiesenen Verbindungen war es möglich, synthetische Gemische herzustellen, die den natürlich vorkommenden Zusammensetzungen qualitativ und quantitativ äußerst nahe kamen, was durch gaschromatographische Vergleiche überprüft wurde. Trotz dieser sehr weitgehenden Annäherung an die originäre Zusammensetzung waren die synthetischen Mischungen in erheblich geringerem Maße verhaltenswirksam als die natürlichen Duftsekrete. Die Autoren vermuteten als Ursache für diesen Verlust an biologischer Aktivität, daß weitere Komponenten, die offenbar in dem sehr geringen Anteil der nicht identifizierten Verbindungen zu suchen seien, notwendig sind, um die volle Verhaltenswirksamkeit zu erreichen.

In diesem Zusammenhang sind auch die schon in der Einleitung angesprochenen Untersuchungen von Reformato et al. (1983) und Halpern et al. (1984) wichtig (s. S. 6). Die Autoren hatten die verhaltensaktiven Komponenten in Regenwurmgeruch untersucht. Als Maß für die Verhaltenswirksamkeit diente hierbei die Veränderung der Züngelfrequenz bei Thamnophis sirtalis, für die Regenwürmer eine bevorzugte Beute darstellen. Hier wurden nach einer Reihe von Analyseschritten mehrere Verbindungen isoliert, von denen jedoch nur eine - und auch nur mäßig - verhaltenswirksam war. Die vollständigen, d. h. aus allen isolierten Verbindungen bestehenden Proben, hatten zwar eine etwas höhere biologische Aktivität, Schnappreaktionen konnten jedoch nur in Ausnahmefällen beobachtet werden. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die biologische Bedeutung von Regenwurmgeruch für das Beutefangverhalten von Thamnophis durch das Zusammenwirken mehrerer chemischer Komponenten entsteht, die sich in einem bestimmten Verhältnis zueinander befinden müssen, um die volle Verhaltenswirksamkeit zu erreichen und somit Schnappreaktionen auszulösen. Das von den Autoren beschriebene komplizierte Probenaufbereitungsverfahren führt jedoch offenbar zu einer starken Veränderung des ursprünglichen Geruchsmusters,

wobei jeder weitere Analyseschritt mit einem fortschreitenden Verlust an biologischer Aktivität verbunden ist. Die am Schluß der Analyse gefundene "wirksame" Verbindung - ein hochmolekulares Glykoprotein - kann streng genommen nicht mehr als aktive Komponente bezeichnet werden, da die Reaktion der Versuchstiere gegenüber dieser Verbindung lediglich aus einer leichten Erhöhung der Züngelfrequenz bestand. Dies sagt jedoch für sich genommen wenig über die biologische Bedeutung eines wahrgenommenen Geruchs aus, da alle möglichen Gerüche zu einer Veränderung der Zügelrate führen können. Als verlässlicher Indikator dafür, ob ein Geruchsreiz als Beutegeruch empfunden wird, könnte daher nur das Auftreten von Schnappreaktionen angesehen werden.

Bei einem Vergleich der o.a. Untersuchungsergebnisse mit denen der vorliegenden Arbeit werden einige wichtige Parallelen deutlich. In allen Fällen führten Veränderungen komplexer, verhaltensrelevanter Geruchsreize zu einer Verringerung der biologischen Aktivität der untersuchten Gemische. Diese Veränderungen waren teilweise sehr gering, d. h. analytisch nur an wenigen Komponenten feststellbar, wie z. B. bei den synthetischen Gemischen in den Untersuchungen von Eppler et al. (1979), oder in der vorliegenden Untersuchung bei den Versuchen mit schwach verändertem Beutegeruch. Dennoch war in beiden Fällen eine Verminderung der Verhaltenswirksamkeit zu beobachten. Auffällig ist weiterhin, daß bei mindestens drei der o. a. Untersuchungen Verbindungen aus gleichen Stoffklassen den überwiegenden Anteil der vorkommenden Substanzen bildeten. Dies waren Aminosäuren in der Untersuchung von Atema et al. (1980), verschiedene Buttersäureester höherer Alkohole in der Untersuchung von Eppler et al. (1979) und einige geradkettige, niedermolekulare Aldehyde in der vorliegenden Untersuchung.

Man könnte hieraus, sowie aus den Ergebnissen anderer Autoren, den Schluß ziehen, daß die Geruchswelt der Wirbeltiere in bezug auf die einzelnen biologisch relevanten Geruchsreize aus Mischgerüchen verwandter Substanzen zusammengesetzt ist. Der relativ unspezialisierte Aufbau des olfaktorischen Systems der Wirbeltiere, bei denen - im Gegensatz etwa zu den Insekten - spezifische Rezeptoren bisher nicht nachgewiesen werden konnten, würde dieser Auffassung entge-

genkommen.

In besonderem Maße gilt dies sicherlich für Nahrungs- und Beutegerüche, darüberhinaus möglicherweise aber auch für Geruchsreize aus der Umwelt, die bei Orientierung und Heimfindeverhalten eine bedeutende Rolle spielen können (s. Einleitung). Auch Duftsignale, die der Steuerung sozialer Verhaltensweisen und der Abgrenzung von Territorien dienen, sind offenbar - wie die Untersuchungen von Epple und Mitarbeitern gezeigt haben - häufig komplexe Mischungen mehrerer chemisch verwandter Komponenten. Dies scheint auf der einen Seite - etwa bei Nahrungs- und Beutegerüchen - eine natürliche Gegenbenheit zu sein. Auf der anderen Seite könnte das Vorhandensein mehrerer Komponenten die in bestimmten quantitativen Verhältnissen zueinander stehen, eine notwendige Voraussetzung dafür sein, um den Informationsgehalt eines chemischen Signals zu erhöhen, z.B. bei Geruchsreizen im Rahmen des Sozialverhaltens.

Die Wahrnehmung komplex zusammengesetzter Geruchsreize scheint also so etwas wie den "olfaktorischen Normalfall" bei Wirbeltieren darzustellen. Hieraus ergeben sich einige Überlegungen in bezug auf die Funktionsweise des olfaktorischen Systems: Grundsätzlich gesehen könnte die Wahrnehmungsweise analytisch oder synthetisch sein. Ein analytisches Konzept setzt voraus, daß jede Komponente eines Geruchs für sich wahrgenommen wird, während bei einer synthetischen Funktionsweise die verschiedenen Bestandteile eine einheitliche Empfindung hervorrufen. Die Untersuchungen von Laing et al. (1984) an menschlichen Versuchspersonen geben für die Klärung dieser Frage einige wichtige Hinweise. Danach wurden bei der Perzeption von Mischungen, die aus zwei Komponenten unähnlicher Geruchsstoffe bestanden - wobei beide Komponenten die gleiche (ungemischte) Geruchsinintensität hatten - stets beide Komponenten nebeneinander wahrgenommen, ohne zu einer neuen Geruchsqualität zu verschmelzen. Hierbei waren die wahrgenommenen Einzelintensitäten im Vergleich mit den ungemischten Intensitäten gleich stark vermindert, d. h. beide Komponenten hatten einen hemmenden Einfluß aufeinander, so daß die Geruchsinintensität derartiger Gemische erheblich unter der Summe der (ungemischten) Einzelintensitäten blieb. War jedoch die

(ungemischte) Intensität der einen Komponente geringfügig größer als die der anderen, so dominierte die stärkere Komponente im Gemisch erheblich, ohne daß anfangs die Wahrnehmung des schwächeren Bestandteils verloren ging. Dies galt jedoch nur für einen sehr schmalen Differenzbereich; wurde dieser überschritten, so verschwand die Wahrnehmung der schwächeren Komponente vollständig, obwohl deren Einzelintensität weit über der für eine Wahrnehmung erforderlichen Schwellenintensität lag. Die beschriebenen Interaktionen waren teilweise von der Gesamtkonzentration der Geruchsstoffe abhängig. So waren die Effekte bei höheren Konzentrationen ausgeprägter als bei niedrigen. Bei der Perzeption von Doppelgemischen ähnlich riechender Geruchsstoffe war, verglichen mit den Einzelintensitäten, eine ähnliche Verminderung der Summenintensität wie bei Gemischen unähnlicher Komponenten zu beobachten (Berglund et al. 1973). Allerdings scheinen hier die Geruchsqualitäten der Komponenten zu einer einheitlichen Geruchsempfindung zu verschmelzen, wobei neue Geruchstönungen entstehen. Leider gibt es hierzu keine abschließenden Untersuchungen.

Aus der eingangs erwähnten Möglichkeit der vollständigen Wahrnehmungsunterdrückung der schwächeren Komponente eines binären Gemisches unähnlicher Bestandteile läßt sich auf eine starke Tendenz des olfaktorischen Systems zu einer synthetischen Wahrnehmungsweise schließen. Die einheitliche Wahrnehmung ähnlich riechender Komponenten spricht ebenfalls für ein synthetisches Konzept. Andererseits sind gewisse analytische Eigenschaften des Geruchssinnes, die z. B. durch die erwähnte gleichzeitige Wahrnehmung unähnlicher Komponenten gleicher (ungemischter) Intensität zum Ausdruck kamen, jedoch nicht zu übersehen.

Sicher lassen sich diese bei der Untersuchung der sensorischen Eigenschaften binärer Gemische gewonnenen Erkenntnisse nicht vollständig auf die ungleich komplexen Verhältnisse bei multikomponenten Gemischen übertragen. Dennoch könnte man sich vorstellen, daß bei komplex zusammengesetzten Geruchsreizen größere Gruppen ähnlicher Komponenten, deren Einzelintensitäten sich in stärkerem Maße addieren als unähnliche Geruchsbestandteile, über die weniger intensiven unähnlicheren Komponenten dominieren. Auf den vorliegenden

Fall angewandt, könnte dieses - bestimmte Intensitäts- und Qualitätsverhältnisse vorausgesetzt - dazu führen, daß tatsächlich nur noch ein begrenzter Anteil ähnlich riechender Komponenten wahrgenommen würde. Dabei müßten diese sich allerdings bei der Entstehung des sensorischen Gesamteindrucks ergänzen und daher für das Zustandekommen einer bestimmten Geruchstönung in einem bestimmten quantitativen Verhältnis zueinander vorliegen. Hierbei würde jedoch der Einfluß der schwächeren oder unähnlicheren Komponenten auch bei Unterschwelligkeit nicht verlorengehen, da diese die Wahrnehmung anderer, überschwelliger Bestandteile - anhängig von Geruchsqualität und Intensität - mehr oder weniger stark hemmen könnten und so entscheidend zum jeweiligen Geruchs-"blending" beitragen¹. Es ist insofern richtig zu sagen, daß auch in komplexen Gemischen alle Komponenten zu dem bei der Geruchsperzeption entstehenden Sinneseindruck beitragen können. Man könnte die Wahrnehmungsweise des olfaktorischen Systems daher als sowohl analytisch als auch synthetisch bezeichnen.

In Hinsicht auf die Geruchsähnlichkeiten der Komponenten im Grillengeruch ist anzumerken, daß die identifizierten Verbindungen wie erwähnt überwiegend einer bestimmten Verbindungsklasse (Aldehyde) angehörten und hinsichtlich ihrer sensorischen Eigenschaften mehr oder weniger ähnlich waren. Wenn man weiter davon ausgeht, daß auch andere, nicht identifizierte Verbindungen des untersuchten Geruchs Aldehyde waren (s. Aldehydnachweis, Kap. 3.1.3), während weitere, zu anderen Stoffklassen gehörende Komponenten ebenfalls ähnliche Geruchseigenschaften haben könnten, so kann man annehmen, daß bei dem untersuchten Geruch wahrscheinlich der überwiegende Teil der Komponenten direkt zum Sinneseindruck beitrug². Folgt man der hier vertretenen Auffassung weiter,

1) vgl. hz. a. die interessanten Ausführungen von Neuhaus (1956) zum gleichen Thema.

2) Unter der Voraussetzung, daß chemisch verwandte, also z.B. der gleichen Stoffklasse angehörende Verbindungen über ähnliche Geruchseigenschaften verfügen, läßt sich diese Auffassung auch auf die Untersuchungen der übrigen hier genannten Autoren übertragen. Diese Voraussetzung wird jedoch - s. Einleitung - nicht in jedem Fall erfüllt.

so kann man annehmen, daß für die volle Identifikation von Grillengeruch als beuterelevanter Reiz das Vorhandensein des überwiegenden Teils der beobachteten Komponenten notwendig ist. Diese müssen darüberhinaus in einem bestimmten quantitativen Verhältnis zueinander vorliegen, um die volle Verhaltenswirksamkeit zu erreichen. Dieses würde die Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit gut erklären.

4.1.1 Vergleich mit den Ergebnissen von Shinn und Dole

Abschließend erscheint ein Vergleich der vorliegenden Befunde mit den schon in der Einleitung (s. S. 5) erwähnten Ergebnissen von Shinn und Dole (1979) angebracht:

Die Befunde der hier durchgeführten chemischen Analyse weichen erheblich von der von Shinn und Dole in Zusammenhang mit olfaktorisch induzierten Beutefangreaktionen bei Bufo boreas geäußerten Annahme ab, nach der verschiedenartige, nicht näher charakterisierte Lipide die beutefangauslösenden Komponenten in Grillengeruch sein sollen. Es muß jedoch betont werden, daß es sich bei dieser Auffassung um eine reine Vermutung handelte, da eine eigentliche chemische Analyse dort nicht vorgenommen wurde. Weiterhin spricht die Tatsache, daß die eigentlichen Lipide (Glycerinester höherer Fettsäuren) allgemein schwer flüchtig und oft nahezu geruchlos sind, gegen eine ausschlaggebende Beteiligung am Geruch eines Vielkomponentengemisches. Lipide sollten daher - falls überhaupt vorhanden - als Geruchskomponenten des untersuchten Beutegeruches von eher untergeordneter Bedeutung sein¹. Mit der Bezeichnung "Lipide" könnten in der erwähnten Untersuchung von Shinn u. Dole jedoch auch bestimmte niedermolekulare Fettsäureester gemeint sein (z. B. Buttersäureverbin-

1) Die Tatsache, daß Lipide nur schwach riechen, sollte auch in bezug auf die Geruchswahrnehmung der Amphibien gelten, da diese offenbar von der menschlichen Wahrnehmung nicht sehr verschieden ist (Döving, 1966b, c). Für die Annahme einer relativ einheitlichen Geruchswahrnehmung innerhalb der aufsteigenden Wirbeltierreihe spricht ebenfalls der in wichtigen Punkten übereinstimmende histomorphologische Aufbau des olfaktorischen Systems in vielen Wirbeltierklassen (Andres, 1970).

dungen), die über mehr oder weniger ausgeprägte Geruchseigenschaften verfügen und unter Vorbehalt als lipidartige Verbindungen bezeichnet werden können. Da in der vorliegenden Untersuchung das Hauptaugenmerk der Analyse auf der Identifizierung der Hauptkomponenten des Gemisches lag, ist nicht auszuschließen, daß sich unter den restlichen, nicht identifizierten Bestandteilen tatsächlich derartige Verbindungen befanden, die dann zum Geruch der untersuchten Proben hätten beitragen können. Rein mengenmäßig gesehen bestand der überwiegende Teil des untersuchten Gemischs aus den erwähnten Aldehyd-Verbindungen die alle intensive Geruchsstoffe darstellen und daher den entstehenden Geruchseindruck maßgeblich bestimmen sollten. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß zwar eine Beteiligung lipidartiger Verbindungen am Geruch von Grillen nicht völlig auszuschließen ist. Keinesfalls dürften diese jedoch wie von Shinn u. Dole (1979) behauptet, die tragende Rolle als Beutefang auslösende Komponenten spielen. Diese Betrachtungsweise wird auch durch die noch zu besprechenden Ergebnisse der Verhaltensversuche gestützt.

Hinsichtlich der Vergleichbarkeit der Befunde der vorliegenden Untersuchung mit denen von Shinn und Dole (1979) könnte man einwenden, daß in beiden Untersuchungen verschiedene Grillenarten verwendet wurden: Während die genannten Autoren die Verbindungen im Geruch von Acheta domesticus untersuchten, wurde in der vorliegenden Untersuchung der Geruch von Gryllus bimaculatus analysiert. Beide Grillenarten sind jedoch relativ nahe verwandt und in bezug auf ihre Morphologie und Lebensweise recht ähnlich; überdies waren die Haltings- und Fütterungsbedingungen bei beiden Untersuchungen nahezu identisch. Es ist daher anzunehmen, daß die unter diesen Umständen auftretenden Geruchsmuster - zumindest in Hinsicht auf die qualitative Zusammensetzung wichtiger Hauptkomponenten - ähnlich oder identisch waren. Diese Annahme konnte im übrigen dadurch bestätigt werden, daß Feuersalamander, die ausschließlich mit Grillen (Gryllus bimaculatus) aufgezogen worden waren, auf den Geruch von Acheta domesticus, die aus der eigenen Institutszucht stammten, in gleicher Weise reagierten wie auf den Geruch von Gryllus bimaculatus (Verbeek, unveröffentl. Beob.).

4.2 VERHALTENSBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

4.2.1 Lernverhalten / Geruchsprägung

Bei der Diskussion der Ergebnisse der Lernversuche muß ausdrücklich auf das zum Teil - besonders bei den Versuchen mit einjährigen Tieren - geringe Datenmaterial hingewiesen werden. Unter diesem Vorbehalt betrachtet lassen sich die Ergebnisse folgendermaßen zusammenfassen:

1. Die Beutefangreaktionen von Salamandern gegenüber bestimmten Beutegerüchen können offensichtlich gelernt werden, wobei der hierzu notwendige, außerordentlich geringe Erfahrungsumfang bemerkenswert ist und an einen prägungsähnlichen Lernvorgang denken läßt. Dies überrascht um so mehr, wenn man bedenkt, daß die Verhaltensweisen von Amphibien oft stereotyp und von Lernvorgängen wenig beeinflusst erscheinen.
2. Für eine mögliche Geruchsprägung (bei der das Vorhandensein einer sensiblen Phase ein Hauptkriterium darstellt) spricht ebenfalls die Tatsache, daß jüngere Tiere die Kenntnis eines neuen Beutegeruchs sehr schnell lernten, ältere dagegen überhaupt nicht.

So zeigt die schnelle Zunahme der Anzahl der Schnappreaktionen gegenüber Mehlwurmgeruch (s. Abb. 27), daß hierbei zumindest ein Teil der verwendeten, einjährigen Versuchstiere, die vorher ausschließlich mit Grillen gefüttert worden waren, schon nach 1 - 2 maliger Erfahrung einen vorher nicht bekannten Geruch als beuterelevant identifizierten. Dreijährige regenwurmgefütterte Tiere lernten dagegen selbst nach vielen Wiederholungen nicht Grillengeruch als beuterelevanten Stimulus zu erkennen. Dies war selbst dann der Fall, wenn die Versuchsdauer sehr hoch war (24 h). Zwar wurde dann eine etwas größere Anzahl von Grillen gefressen als bei einer Versuchsdauer von 20 min. (4,0 bzw. 26,0 %), die Beutefangrate blieb jedoch konstant auf diesem niedrigen Niveau, ohne daß im weiteren Verlauf der Versuche Anzeichen für ein Ansteigen der Beutefangaktivität gegenüber Grillengeruch zu beobachten gewesen wäre, was auf einen Lernvorgang hätten schließen lassen.

3. Ein weiteres wichtiges Ergebnis war, daß Salamander im Alter von 3 Jahren, die bis zum Beginn der Versuche nur

Grillen als Beute erhalten hatten, spontan, also ohne eine Lernphase, mit einer sehr hohen Beutefangrate auf den Geruch von Regenwürmern reagierten. Dies läßt auf eine angeborene Kenntnis bestimmter Beutegerüche schließen.

Unklar bleibt allerdings, warum die verwendeten Versuchstiere gegenüber Beutegerüchen, deren Kenntnis nicht angeboren war (Mehlwurm- bzw. Grillengeruch) überhaupt mit Beutefangreaktionen reagierten. Als mögliche Erklärung hierfür könnte man Geruchsähnlichkeiten der neuen Beute mit den bekannten Beutegerüchen annehmen, die auf eine gewisse Anzahl ähnlicher oder gleichartiger Geruchskomponenten zurückgehen könnten. Dies ist zumindest für Grillen- und Mehlwurmgruch nicht unwahrscheinlich. Salamander, die mit einem unbekannten Beutegeruch konfrontiert werden, könnten hierbei ein sozusagen erprobendes Beutefangverhalten zeigen, bei dem nach anfänglichem, längeren Zögern nach einigen "versuchsweisen" Schnappreaktionen, sehr schnell am Erfolg einer Beutefanghandlung gelernt würde. Dafür sprechen die am Anfang erheblichen verlängerten Fixier- und Gesamtzeiten (s. Abb. 28 u. 29, sowie Abb. 24).

Bei diesem Lernvorgang spielen neben olfaktorischen sicherlich taktile Reize eine erhebliche Rolle. Innerhalb des biochemischen Teils der vorliegenden Untersuchungen konnte regelmäßig beobachtet werden, daß mit Geruchsextrakten getränktes Filterpapier, ebenso wie die Filterpapierstücke der sehr verhaltenswirksamen GFP-Proben, trotz erfolgter Schnappreaktionen nicht gefressen, sondern wieder ausgespien wurden. Auch war hier nie eine allmähliche oder sprunghafte Erhöhung der Beutefangaktivität, die auf einen Lernvorgang hätte schließen lassen, festzustellen.

Ähnliche Beobachtungen werden von Kramer (1933) bei Versuchen mit Xenopus laevis berichtet. Hier wurde in Mehlwurmsaft getränktes Fließpapier von den geblendeten Versuchstieren zwar als Geruchsbeute angenommen, jedoch nach kurzer Zeit ebenfalls ausgespien. Das gleiche war der Fall mit in Mehlwurmsaft getränkten Wattestücken. Gelatinestücke wurden dagegen stets gefressen. Hieraus wird deutlich, daß der taktile Reiz, der sich beim Fressen einer Beute ergibt, in starkem Maß zur Identifikation der Beute beiträgt und überdies Lernvorgänge anderer Modalitäten beeinflussen kann.

Gegen die Interpretation der Ergebnisse der Versuche mit dreijährigen Tieren könnte eingewandt werden, daß Regenwurmgeruch und Grillengeruch wahrscheinlich untereinander erheblich unähnlicher sind als Mehlwurm- und Grillengeruch. Die Versuchstiere könnten daher eher bereit gewesen sein, auf Mehlwurmgeruch zu reagieren und diesen als Beutegeruch zu lernen. Die dreijährigen Tiere hätten dann also auf Grund fehlender Geruchsähnlichkeiten zwischen Regenwürmern und Grillen nicht auf Reizung mit Grillengeruch reagiert und so - wegen fehlender Erfahrung mit der neuen Beute - den Grillengeruch nicht gelernt. Gegen diese Auffassung spricht jedoch, daß dieselben Versuchstiere später für die Versuche zur olfaktorischen Orientierung verwendet wurden und hierbei in Vorversuchen ebenfalls nicht auf Grillengeruch reagierten, obwohl sie nach Beendigung der Lernversuche ca. 6 Monate lang mit Grillen unter normalen Bedingungen - d.h. bei Licht - gefüttert worden waren und die angebotenen Grillen stets gefressen hatten. Die Versuchstiere hätten also Grillengeruch als beuterelevanten Stimulus erkennen können. Die Tatsache, daß dies nicht geschah, zeigt ebenfalls deutlich den Verlust des olfaktorisch induzierten Lernvermögens nach einer bestimmten Entwicklungsphase. Es ist also eine Bindung olfaktorischer Lernvorgänge an bestimmte Alters- oder Entwicklungsstufen festzustellen. Bemerkenswert ist die Dauer dieser Lernphase. Sie beträgt bei den hier verwendeten Feuersalamandern offenbar mindestens ein Jahr, wie die Ergebnisse der Versuche mit einjährigen Tieren zeigen. Dies ist erheblich länger als die von Luthardt-Laimer und Roth (1983) für Feuersalamander ermittelte Dauer der Prägungsphase für visuelle Reize, die dort nur ca. 1 Monat betrug. Daneben fällt die Schnelligkeit auf, mit der olfaktorische Reize - im Gegensatz zu visuellen - gelernt werden können. Wie die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen, kann bei Salamandern unter Umständen die einmalige Erfahrung mit einer Beute ausreichen, um ihren Geruch wiederzuerkennen¹. Die Untersuchungen von Dole et al. (1981) zeigen, daß ein ähnlich schnelles Lernen von Beutegerüchen auch bei anderen

1) Dieser Befund konnte inzwischen durch eine ähnliche Versuchsreihe bestätigt werden (Veebek et al. unveröffentl. Beobachtung).

Amphibien vorkommt. So waren auch dort messbare Verhaltensänderungen gegenüber einem neuen Beutegeruch schon nach einmaliger Erfahrung mit der neuen Beute zu beobachten gewesen.

4.2.2 Allgemeine Betrachtung zum Lernen von Geruchsreizen

Allgemein scheinen Geruchsreize bei Wirbeltieren schnell gelernt zu werden, wobei die zu beobachtenden Gedächtnisleistungen hoch sind. Eingehende Untersuchungen hierzu sind unter Verwendung artifizieller Stimuli an Ratten durchgeführt worden (Nigrosh et al., 1975; Slotnick & Katz, 1974; Slotnick, 1984). Die hierbei beobachteten Lern- und Unterscheidungsleistungen in bezug auf olfaktorische Reize waren erheblich besser als bei visuellen und auditorischen Reizen. Auch bei einigen anderen Säugetierspezies wurden gute Lernleistungen gegenüber olfaktorischen Reizen festgestellt (Apfelbach, 1978; Langley, 1984).

Auch beim Menschen wurde eine außerordentliche Befähigung festgestellt, sich an einmal wahrgenommene Geruchsreize über längere Zeiträume hinweg zu erinnern. So fanden Engen et al. (1973) und Engen und Ross (1973), daß Gerüche, im Gegensatz zu visuellen Eindrücken (Shepard, 1967), nur sehr langsam vergessen werden. Lawless und Cain (1975) gelangten bei weiterführenden Untersuchungen zu ähnlichen Ergebnissen: "The most interesting aspect of odor memory is the extremely slow rate of forgetting." Die Autoren stellten fest, daß verschiedene Testvariablen, wie z.B. die korrekte Bezeichnung von Gerüchen, die Bekanntheit mit einzelnen Geruchsreizen und deren Einstufung in verschiedene Kategorien und Annehmlichkeit keinerlei Einfluß auf die Gedächtnisleistung hatten. Sie schlossen daher auf eine Gedächtnisspeicherung von Geruchseindrücken in einer rohen, wenig codierten Form, wobei die Verbindung zwischen der sprachlichen Verarbeitung einerseits und der Wahrnehmung bzw. Wiedererkennung von Geruchsreizen andererseits schwach sei. Diese Befunde unterstreichen den relativ ursprünglichen Charakter des Geruchssinnes und weisen darüberhinaus - ebenso wie die weiter oben dargestellten Ergebnisse - auf

eine, bei Wirbeltieren möglicherweise generell vorhandene, besondere Beziehung zwischen Geruchssinn und Lern- bzw. Gedächtnisleistung hin.

Für diese auffällige Verbindung zwischen Geruchswahrnehmung und Erinnerungsvermögen scheint es mehrere Gründe zu geben. Wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, können Geruchsreize eine wichtige Rolle bei der Verhaltenssteuerung in allen Funktionskreisen des Verhaltens spielen. Bei bestimmten innerartlichen Kommunikationsformen, z.B. im Rahmen des Paarungsverhaltens, treten hierbei häufig Leitsubstanzen (Pheromone) auf, deren Wahrnehmung relativ starre Reaktionsweisen hervorruft¹; hier sind angeborene Verhaltensformen zu vermuten. Eine völlig andere Situation kann man in Bezug auf verschiedene Formen des Sozialverhaltens, beim olfaktorisch gesteuerten Heimfindevermögen und beim Beutefang bzw. der Nahrungsaufnahme vermuten. Bei den hierbei auftretenden Geruchsreizen handelt es sich - wie bei dem in der vorliegenden Untersuchung analysierten Beutegeruch - um äußerst komplexe Mischungen aus oft hunderten verschiedener Verbindungen. Diese rufen, so ist auch auf Grund der hier erzielten Ergebnisse zu vermuten, einen Gesamtgeruchseindruck hervor, der aus den komplexen sensorischen Interaktionen der Einzelkomponenten resultiert. Es ist weiterhin anzunehmen, daß diese Geruchsreize beträchtlichen Variationen hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung unterworfen sein können. Hieraus ist weiter zu folgern, daß die biologische Bedeutung derartiger Geruchsreize von Fall zu Fall gelernt werden muß, da eine genetische Determination, sowohl wegen der Vielzahl möglicher Geruchszusammensetzungen als auch aufgrund des Fehlens einfacher, übergreifender Reizparameter

1) Hierbei scheint jedoch nie nur eine Substanz verhaltensauslösend zu sein, entscheidend ist vielmehr immer das Vorhandensein mehrerer Verbindungen in bestimmten quantitativen Verhältnissen (s. hz. Müller-Schwarze u. Mozell, 1977).

unwahrscheinlich erscheint ¹. Am Beispiel des olfaktorisch gesteuerten Heimfindeverhaltens wird dies besonders deutlich: Die häufig anzutreffende Steuerung des Heimfindeverhaltens durch olfaktorische Reize (s. Einleitung) erscheint einerseits sinnvoll, da man annehmen kann, daß relativ "einfache" Gehirne wie z.B. die der Amphibien mit der visuellen Steuerung des Heimfindeverhaltens in einer unübersichtlichen vielfältigen gestalteten Umwelt überfordert sind. Andererseits ist jedoch die olfaktorische Reizsituation hierbei völlig von den jeweiligen örtlichen Gegebenheiten anhängig und muß daher gelernt werden. Ähnliche Sachverhalte könnte man sich in bezug auf den olfaktorischen Beutefang oder die Nahrungsaufnahme allgemein vorstellen. Die Ursache der besonderen Lernfähigkeit des olfaktorischen Systems der Amphibien wird aus einem Vergleich mit anderen Sinnesmodalitäten deutlich: Während für eine umfassende Reizaufnahme und Reizverarbeitung visueller oder auditorischer Sinneseindrücke - wegen der äußerst komplexen Reizsituationen - hochentwickelte Nervensysteme vorhanden sein müssen, erfordert demgegenüber der Geruchssinn - auch aufgrund der mehr synthetischen Wahrnehmungsweise - kein derartiges Maß an komplexer Reizverarbeitung. Da hier mit relativ einfachen Mitteln eine umfassende Verarbeitung variabler Reizsituationen erreicht wird, erscheint die Fähigkeit zu plastischen Veränderungen hier möglich und sinnvoll. Das olfaktorische System gerade auch der niederen Wirbeltiere sollte daher viel eher als andere sensorische Systeme in der Lage sein, die hier auftretenden - im Vergleich zu

1) Die verhaltenssteuernden Parameter beim visuell gesteuerten Beutefangverhalten der Amphibien sind Größe, Gestalt, Kontrast und Bewegung. Da alle infrage kommenden Beutetiere hierüber unter entsprechenden Bedingungen diese Reizbedingungen erfüllen, können die Reaktionen auf diese relativ einfachen Reizparameter genetisch determiniert sein. Das genaue Aussehen einer Beute spielt hier eine ebenso untergeordnete Rolle wie Lernvorgänge (vgl. hz. z.B. Ewert, 1976). Auch die im Vergleich zum Geruchssinn mehr analytische Wahrnehmungsweise des visuellen Systems spielt hier eine Rolle (s. hz. a. Diskussion).

visuellen Eindrücken - relativ einfachen Reizmuster zu lernen und als Gedächtnisspuren zu speichern. Das Lernen komplexer visueller Sinneseindrücke würde dagegen einen Grad von neuronaler Entwicklung voraussetzen, der z. B. bei Amphibien noch nicht vorhanden ist. Auf einige der hieraus folgenden Implikationen für die Evolution und die Funktion des Wirbeltiergehirns wurde schon in der Einleitung hingewiesen.

4.3 ORIENTIERUNGSVERHALTEN

Bei den Untersuchungen zur olfaktorischen Orientierung sollte wegen der unterschiedlichen Versuchsbedingungen klar zwischen den Ergebnissen der ersten und der zweiten Versuchsreihe unterschieden werden:

Die Versuche der ersten Reihe, bei der das Orientierungsverhalten im Nahbereich einer Beute untersucht wurde, hatten gezeigt, daß die ersten Orientierungsbewegungen bezüglich ihrer Richtung zur Beute zufällig gewesen waren. Hier wurde also keine gezielte, tropotaktische Annäherung beobachtet, so daß in der ersten Phase des Suchablaufes von einem Suchen nach dem Versuch- und Irrtumsprinzip gesprochen werden kann. Dies änderte sich jedoch mit dem Auftreten der Witterstellung. Diese für den olfaktorischen Beutefang von Salamandern typische Verhaltensweise (Himstedt, 1967) besteht aus einem Senken der Schnauzenspitze bei gleichzeitigem Anheben der Nackenregion. Während der Witterstellung konnten gelegentlich leichte, oft kaum sichtbare Bewegungen des Kopfes in bilateraler und rostro-caudaler Richtung beobachtet werden. Bei der auf die Witterstellung folgenden Orientierungsbewegung wurde jetzt in ca. 90 % der Fälle die richtige Richtung gewählt.

Diese Ergebnisse ließen zunächst vermuten, daß eine Richtungsunterscheidung auf Grund bilateraler Intensitäts- oder Laufzeitdifferenzen und damit eine echte räumliche Geruchswahrnehmung beim Feuersalamander nicht per se besteht, sondern daß diese immer an die Verhaltensweise der Witterstellung gebunden ist. Auch diese besteht jedoch mindestens teilweise aus einer sukzessiven Differenzwahrnehmung, was

durch die erwähnten Pendelbewegungen des Kopfes zum Ausdruck kam. Diese Bewegungen waren jedoch nicht immer vorhanden und oft nur schwach angedeutet, so daß die Orientierung während der Witterstellung als zumindest teilweise tropotaktisch (d.h. durch simultane Differenzwahrnehmung geleitet) bezeichnet werden kann.

Dieser Widerspruch zwischen dem offensichtlichen Fehlen einer Richtungswahrnehmung in einer stark lateralen Reizsituation und dem gleichzeitigen Vorhandensein der Tropotaxis in Zusammenhang mit einer bestimmten Verhaltensweise (nämlich der Witterstellung) läßt auf ein relativ starres Verhaltensschema schließen, dessen Ablauf hier - offenbar auf Grund der gewählten Versuchsbedingungen - als wenig sinnvoll in bezug auf ein schnelles Auffinden der Beute erscheint. Es sei in diesem Zusammenhang noch einmal daran erinnert, daß bei dieser Versuchsreihe die Beute den Versuchstieren in sehr geringer Entfernung seitlich bzw. frontal vor die Schnauzenspitze gelegt wurde. Dies sind sicherlich künstliche Bedingungen, die den natürlichen Verhältnissen nicht entsprechen. Eher ist anzunehmen, daß Salamander auf Beutesuche zufällig in das Duftfeld einer Beute geraten, bzw. daß diese sich ihnen annähert, wobei die Konzentrationen der Geruchsstoffe anfangs sicherlich gering sind und sich erst schrittweise im Zuge der weiteren Annäherung vergrößern. Ein bestimmtes festgelegtes Verhaltensschema des olfaktorischen Beutefangs könnte hierauf abgestimmt sein. Die Beobachtungen der zweiten Versuchsreihe, bei der wesentlich größere Beuteentfernungen gewählt wurden, legen diesen Schluß nahe: Nach einer Phase scheinbar ziellosen Umherlaufens im Versuchsbehälter waren hier oft unvermittelt mehr oder weniger abrupte Bewegungsänderungen in Richtung auf die Geruchsquelle zu beobachten. Die darauffolgende direkte Annäherung an die Beute wurde oft von heftigen Pendelbewegungen des Kopfes oder Vorderkörpers begleitet, die zu einem Zickzackkurs führten (s. Abbildungen). Im Laufe der Anfangsphase des Suchverhaltens wurden hier ab und zu Witterstellungen beobachtet. Diese hatten jedoch bei den hier vorliegenden größeren Beuteentfernungen - im Gegensatz zur Orientierung im Nahbereich - offenbar keinen wesentlichen orientierenden Effekt (s. Abb. 38 u. 39). Auffällig an diesen

Beobachtungen war der relativ hohe Prozentsatz direkter Annäherungen (66,6 %), aus dem auf das Vorhandensein eines bilateralen Mechanismus zur Richtungswahrnehmung geschlossen werden kann.

Es bleibt jedoch die Frage offen, warum die Versuchstiere hiervon nicht generell, d.h. in allen Phasen des Beutefangs Gebrauch machten, sondern wie erwähnt in der Nähe der Beute, oft mit ziemlich heftigen Bewegungen, nach dem Prinzip von Versuch und Irrtum umhersuchten oder nach nahem Vorbeilaufen an der Beute unvermittelt weite "Umwege" einschlugen und sich schließlich aus völlig anderen Richtungen der Beute - diesmal gezielt - wieder annäherten. Ebenso ist es merkwürdig, daß die Witterstellung offensichtlich nur in unmittelbarer Nähe der Beute zu einer erfolgversprechenden Richtungswahl führte, während dies bei größerer Beuteentfernung nicht der Fall war.

Zur Erklärung dieser Beobachtungen bieten sich mehrere Möglichkeiten an. So signalisiert das Auftreten sehr hoher Geruchskonzentrationen sicherlich die unmittelbare Nähe einer Beute. Dieser Effekt ist vermutlich dann besonders ausgeprägt, wenn der Beutegeruch, wie es in der ersten Versuchsreihe der Fall war, sehr unvermittelt, d.h. auch ohne vorgehende Adaptation, mit hoher Intensität auftritt. Weiterhin können die beim Hereingeben der Beute in den Versuchsbehälter entstehende Luftbewegungen die Ausbildung eines eindeutigen Geruchsgradienten stören. Dieses könnte zu dem beobachteten heftigen Suchen nach Versuch und Irrtum führen, wobei dies Verhalten nun durchaus sinnvoll erscheint, da es im Nahbereich einer Beute bei vorhandenen Luftturbulenzen von Vorteil ist, ein begrenztes Gebiet schnell abzusuchen, da eine mögliche Beute sich fortbewegen könnte. Dieses mehr ziellose Suchen kann jedoch, wie die Versuche deutlich zeigen, durch eine "konzentrierte" Geruchsprobe, die Witterstellung, immer wieder korrigiert werden, wobei beide Vorgänge sich abwechseln und so mit hoher Wahrscheinlichkeit zum Ziel führen. Die Erfolglosigkeit dieser Kombination aus ungerichteten Suchen und einer richtenden Komponente bei mittleren und höheren Beuteentfernungen könnte dadurch erklärt werden, daß die hier auftre-

tenden, teilweise heftigen Suchbewegungen, die durch abrupte Bewegungsabläufe gekennzeichnet sind, wahrscheinlich erhebliche Luftturbulenzen zur Folge haben. Dadurch verlieren die bei höheren Beuteentfernungen zu vermutenden geringen Geruchskonzentrationen ihren ohnehin schwächeren Gradienten oder dieser wird zumindest so stark gestört, daß eine Gradientenwahrnehmung und damit ein gerichtetes Verhalten nicht mehr möglich ist. Bei geringer Beuteentfernung kann der Geruchsgradient dagegen ausgeprägter sein und sich nach Verwirbelungen schneller durch erneute Diffusion der Geruchsstoffe wieder aufbauen. Die oben beschriebenen Probleme bei der Richtungswahrnehmung sollten daher hier nicht oder nur in einem wesentlich geringeren Ausmaß auftreten. Dies ist offenbar ein weiterer Grund dafür, daß Witterstellung und Versuch- und Irrtumssuchen hauptsächlich bei Auftreten hoher Geruchskonzentrationen, d.h. in der Nähe der Beute zu beobachten waren.

Das gelegentlich beobachtete Verfehlen der Beute nach vollständiger Annäherung hängt offenbar ebenfalls mit der Störung eines Konzentrationsgradienten durch Luftbewegungen zusammen. Die Versuchstiere liefen hierbei nach oft umfangreichen Suchbewegungen direkt an der Beute vorbei, offensichtlich ohne die Lage der Beute wahrzunehmen (s. Abb. 43 u. 45). Häufig kehrten sie dann - wie schon erwähnt - nach einer oft länger andauernden Phase des Umherwanderns im Versuchsbehälter aus einer völlig anderen Richtung - diesmal erfolgreich - direkt zur Beute zurück (s. Abb. 38 u. 39). Man könnte dies damit erklären, daß bei einer Entfernung von der Geruchsquelle und einem längeren Verweilen an anderen Stellen des Versuchsbehälters verwirbelte Luftschichten zur Ruhe kommen, was zu einer erneuten Ausbildung eines Geruchsgradienten führen würde. Dieser wird bei einer erneuten, zufälligen Annäherung an den Geruchsbereich offenbar wahrgenommen, worauf dann ein direktes, sehr gezieltes Ansteuern der Beute erfolgen kann.

Die Wahl der Richtung erfolgt hierbei ganz offensichtlich tropotaktisch, da ausgeprägte Suchbewegungen, die bei einem klinotaktischen Abtasten des Reizfeldes zu erwarten gewesen

wären, hier fehlten¹. In der darauffolgenden Annäherungsphase waren oft Suchbewegungen zu beiden Seiten hin zu beobachten (s. Abb. 41 - 43). Man könnte hier ein klinotaktisches Orientierungsprinzip vermuten, bei dem auf die Wahrnehmung einer negativen Intensitätendifferenz eine Wendereaktion in die entgegengesetzte Richtung erfolgt. Die Tatsache, daß diese Pendelbewegungen hauptsächlich in einer bestimmten Phase des Beutefangablaufes, nämlich bei der Annäherung auf kurze bis mittlere Entfernung, und in häufig sehr stereotyper Weise auftraten, wobei sich die Hauptbewegungsrichtung der Versuchstiere nicht änderte, läßt jedoch einen anderen Grund vermuten. Offenbar soll hierdurch ein Verfehlen der Beute verhindert werden, da durch die beschriebene Bewegungsweise eine größere Fläche bei der Annäherung "systematisch" abgesucht wird. Hierbei könnte es sich also um eine besondere, auf die speziellen Bedingungen des olfaktorischen Beutefangs abgestimmte Verhaltensweise handeln, die ohne einen wesentlichen richtenden Einfluß auf die Wahl der Bewegungsrichtung ist.

Faßt man die hier dargestellten Beobachtungen zusammen, so ergibt sich folgendes Bild: Das durch Geruchsreize ausgelöste Beutefangverhalten der Feuersalamander besteht aus einer Reihe von Verhaltenskomponenten, die sich zu einem komplexen Verhaltensablauf zusammenfügen. Die verschiedenen Orientierungsprinzipien hierbei sind:

1. die tropotaktische Orientierung (= Richtungswahrnehmung auf Grund simultaner Differenzwahrnehmung),
2. Suchen der Beute nach dem Prinzip von Versuch und Irrtum
3. Witterstellung (Verhaltensweise mit klinotaktischen und tropotaktischen Anteilen),
4. Pendelbewegungen des Kopfes.

Das Auftreten dieser Verhaltenselemente ist offenbar in erheblichem Maße situationsabhängig. So konnten Versuch- und

1) Darüberhinaus unterstreicht die an dem monorhinalen Versuchstier Nr. 5 gemachte Beobachtung eines stark gestörten Suchverhaltens die Wichtigkeit eines intakten bilateralen Geruchssystems (s. Resultate).

Irrtumssuchen und die Witterstellung vorzugsweise bei hohen Geruchskonzentrationen, d.h. in der Nähe der Beute beobachtet werden. Tropotaktische Reaktionen scheinen überwiegend in einiger Entfernung von der Beute bei ungestörtem Gradientengefälle aufzutreten, während Pendel- oder Suchbewegungen des Kopfes hauptsächlich bei der Annäherung an eine Beute auf mittlere bis kurze Distanz zu beobachten waren. Es kam jedoch zwischen allen diesen Verhaltenselementen immer wieder zu Kombinationen und Übergängen und daneben zu anscheinend sinnlosen Verhaltensabschnitten. Der Grund hierfür könnte - neben einer wechselnden Motivationslage der Versuchstiere - in der ständigen Veränderung der Reizsituation durch Luftbewegungen zu sehen sein, die unter den gewählten Versuchsbedingungen offenbar hauptsächlich durch die Eigenbewegungen der Versuchstiere verursacht wurden. Es wird daher niemals möglich sein, einen Verhaltensablauf in einer völlig ungestörten, sozusagen reinen Form aufzuzeigen. Dennoch könnte die hier dargestellte Interpretation der Versuchsergebnisse die tatsächlichen Verhältnisse widerspiegeln. Man sieht dies nicht zuletzt am Erfolg der Suchaktionen. Trotz des manchmal scheinbar ungeordneten, zufälligen Erscheinungsbildes der Suchabläufe wurde die Beute regelmäßig, häufig in erstaunlich kurzer Zeit, gefunden. Dieses spricht, ebenso wie die sonstigen Beobachtungen, gegen eine Annahme eines zufälligen Auffindens der Beute, obwohl auch dieses immer eine gewisse Rolle spielen mag. Insgesamt gesehen scheint das olfaktorisch induzierte Beutefangverhalten des Feuersalamanders also ein komplexer, relativ hochentwickelter Vorgang zu sein, dessen Vorhandensein die Bedeutung des Geruchssinnes für den Beutefang von Salamandern eindrucksvoll unterstreicht.

4.3.1 Vergleich mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen

Aus der geringen Anzahl ähnlicher Untersuchungen sind die von Gertz (1938) an Iriturus durchgeführten noch am besten mit denen der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Allerdings besteht ein wesentlicher Unterschied darin, daß in der erwähnten Untersuchung von Gertz Duftspuren gelegt wurden,

denen die Versuchstiere bis zum Erreichen der Beute folgten. Die hierbei beobachteten Suchabläufe lassen jedoch Ähnlichkeiten mit denen von Salamandra erkennen. So traten neben den erwähnten Pendelbewegungen anscheinend auch tropotaktische Verhaltensanteile auf; eine Überprüfung mit einseitig geruchsgeblendeten Tieren wurde jedoch nicht vorgenommen. Kramer (1933), der - offenbar auf Grund der Befunde von Skramlik's (1925) - das Vorhandensein einer tropotaktischen Orientierungsform bei Wirbeltieren grundsätzlich verneint, stellte bei Xenopus laevis ein chemisch induziertes Suchverhalten nach Versuch und Irrtum fest; ähnliche Beobachtungen machte Teichmann (1959) bei Orientierungsversuchen mit Anguilla anguilla (L.). Auch hier konnten keine eindeutig tropotaktischen Verhaltensweisen bei der Orientierung von Aalen in einem Duftfeld beobachtet werden. Teichmann gibt jedoch zu bedenken, daß schnelle, bewegliche Tiere wie Aale es sich einfach "leisten" können, in der Nähe einer Beute größere Bereiche nach dem Prinzip von Versuch und Irrtum schnell abzusuchen. Daneben sind natürlich die Bedingungen für eine olfaktorische Orientierung im Wasser anders als an Land. Besonders in strömenden Gewässern sollte man hier daher eher eine Orientierung entgegen der Strömungsrichtung (Rheotaxis) vermuten.

Besonders interessant in Bezug auf die olfaktorische Orientierung könnten dagegen die Untersuchungen Roth's (1976) an Hydromantes italicus sein. Dieser zur Gruppe der Schleuderzungensalamander (Bolitoglossini) gehörende Plethodontiden-Salamander hält sich während der trockenen Jahreszeit in Kalksteinhöhlen auf und fängt dort mit Hilfe einer etwa 4 cm langen Schleuderzunge Beute auch in Bereichen absoluter Dunkelheit. Roth beobachtete bei Dunkelversuchen eine erstaunliche Trefferquote von ca. 80 %, bei einer Beuteentfernung von einigen Zentimetern.

Dies läßt auf einen äußerst exakt wirkenden Mechanismus zur Gradientenwahrnehmung schließen, der als Anpassung an das zeitweilige Höhlenleben verstanden werden könnte. Entscheidende Voraussetzungen scheinen hierbei die atmosphärischen Bedingungen in Höhlen zu sein. Luftströmungen sind hier entweder sehr konstant oder fehlen völlig. Die Ausbildung

von Duftfeldern mit ungestörtem Gradientengefälle sollte dadurch außerordentlich begünstigt werden. Bei einer Minimierung der durch eigene Bewegungen verursachten Luftturbulenzen - in der Tat bewegt sich Hydromantes in Zeitlupentempo - sollte eine äußerst genaue Gradientenwahrnehmung, wie sie zum Treffen einer Beute bei fehlender visueller Information notwendig ist, möglich sein. Man könnte sich dies so vorstellen, daß ein in dem konzentrischen Duftfeld einer Beute befindlicher Hydromantes bei Erreichen einer bestimmten Geruchskonzentration versuchen würde, den Kopf in eine Stellung zu bringen, bei der die Reizeingänge beider Seiten des Geruchsorgans gleiche Intensitäten hätten. In dieser Situation würde sich der Kopf des Tieres genau in der Richtung der Beute befinden und der Schleuderzungenmechanismus könnte ausgelöst werden. Als Grundlage zur Steuerung dieses Vorgangs ist ein auf simultaner Differenzwahrnehmung beruhendes, bilaterales Orientierungsprinzip anzunehmen, da nur hiermit eine ausreichend große Genauigkeit gewährleistet zu sein scheint. Andere Orientierungsformen, wie z.B. die klinotaktische Orientierung, würden gewisse Eigenbewegungen voraussetzen, die zur Störung des Gradienten führen müßten. In diesem Zusammenhang seien am Rande die anatomisch/histologischen Untersuchungen von Uva und Deplano (1983) des Vorderhirns und des Geruchsorgans von Hydromantes erwähnt, die auf einen besonders hohen Entwicklungsgrad des olfaktorischen Systems bei Hydromantes schließen lassen. In die gleiche Richtung weisen die Ergebnisse der Untersuchungen von Rottluff (1985). Hier hatte Hydromantes von 7 untersuchten Plethodontiden das absolut und relativ gesehen größte Vorderhirn.

4.3.2 Abschließende Betrachtung

An dieser Stelle sind einige Überlegungen hinsichtlich der sinnes- und neurophysiologischen Grundlagen derartiger Orientierungsmechanismen angebracht: Es sollte eigentlich kaum möglich sein, die in Gradientenfeldern auftretenden Konzentrationsunterschiede direkt, d.h. durch bilateralen Reizstärkenvergleich wahrzunehmen. Diese Auffassung kann man zum

einen mit der Nichtlinearität des Gradientengefälles in einem Duftfeld begründen. Dies würde dazu führen, daß die zwischen zwei verschiedenen Orten im Duftfeld zu messenden Konzentrationsunterschiede in einiger Entfernung von der Geruchsquelle nur noch äußerst gering wären. Zum anderen liegen die Nasenöffnungen der meisten Wirbeltiere relativ dicht nebeneinander. Dies ist gerade auch beim Menschen in besonderem Maße der Fall. Dennoch kann die Richtung eines olfaktorischen Reizes auch hier offenbar erkannt werden (v. Békésy, 1964). Absolut gesehen gilt dies auf Grund ihrer geringeren Körpergröße auch für Amphibien, obwohl die Nasenlöcher hier in Bezug auf ihre Lage am Kopf relativ weit auseinander zu stehen scheinen. Salamander sind aber, wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, ebenso wie viele andere Wirbeltiere auch, in der Lage sich tropotaktisch zu orientieren. Da eine Wahrnehmung sehr geringer Intensitätsunterschiede unwahrscheinlich erscheint, könnten Laufzeitdifferenzen zwischen beiden Seiten des Riechorgans eine Rolle spielen. Dies würde jedoch bedeuten, daß eine Richtungswahrnehmung nur in dem Moment des Eintreffens eines Geruchs an den beiden Nasenöffnungen zustande käme. Dieser Zeitpunkt müßte überdies mit dem Respirationszyklus in der Weise übereinstimmen, daß in dem Augenblick des Eintreffens des Reizes an einer der beiden Nares ein Atemzug oder ein Schnüffelstoß zu erfolgen hätte, da nur in diesem Fall eine sukzessive Reizung beider Riechepithelia als Voraussetzung für eine Laufzeitdifferenzwahrnehmung gegeben wäre. Ein derartiger Mechanismus wäre stark von Zufälligkeiten abhängig und erscheint daher wenig wahrscheinlich. Vielmehr ist anzunehmen, daß in fast allen olfaktorischen Reizsituationen die auftretenden Geruchsstoffe von beiden Nasenöffnungen gleichzeitig aufgenommen werden. Eine Richtungswahrnehmung auf Grund der direkten Wahrnehmung von Laufzeitdifferenzen, analog zu den Vorgängen beim Hören - wie von v. Békésy (1964) angenommen - muß daher angezweifelt werden. Die zweifelsfrei nachgewiesene Fähigkeit zur räumlichen Geruchswahrnehmung muß daher anders erklärt werden. Dazu sollten noch einmal die schon in der Einleitung erwähnten Befunde v. Skrawlik's (1925), v. Békésy's (1964) und Levéteaus und Mac Leods (1969 b, c) berücksichtigt werden. Man kann aus den

Ergebnissen dieser Untersuchungen schließen, daß nur bei der extrem geringen Verzögerung von ca. 1 - 3 msec zwischen dem Reizeintritt auf der rechten und auf der linken Seite ein ausgeprägtes Richtungsempfinden zustande kommt. Alle anderen Reizbedingungen, wie etwa größere Konzentrationsunterschiede zwischen beiden Seiten oder rein unilaterale Stimulationen hatten dort weniger ausgeprägte oder überhaupt keine Richtungseffekte zur Folge. Das olfaktorische System scheint also hinsichtlich der Richtungswahrnehmung auf das Auftreten genau definierter, sehr geringer Zeitdifferenzen abgestimmt zu sein. Als Ursache hierfür wären äußerst geringfügige Konzentrationsunterschiede zwischen den beiden Seiten des Geruchssystems anzunehmen, die in bezug auf die Rezeptoren zu unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeiten der Geruchsmoleküle in den beiden Riechepithelia führen. Diese Situation entspräche jedoch ziemlich genau den zu Anfang angenommenen "normalen" olfaktorischen Reizbedingungen in einem Gradientenfeld und hätte zur Folge, daß die an den Rezeptoren zu erreichende, zum Ansprechen des Systems notwendige Schwellenkonzentration auf der näher zur Geruchsquelle befindlichen Seite um Sekundenbruchteile eher erreicht würde als auf der anderen Seite. Es ist weiter anzunehmen, daß der für das Entstehen einer Geruchswahrnehmung notwendige Ansprechpunkt der beiden Seiten des olfaktorischen Systems bei jedem Atemzug oder Schnüffelstoß neu erreicht wird, so daß eine ständige Kontrolle der Zeitdifferenzen und damit der Reizrichtung gewährleistet ist.

Eine solche Zeitdifferenzwahrnehmung, die bevorzugt auf kleinste Konzentrationsunterschiede reagiert, erscheint äußerst sinnvoll in Bezug auf die olfaktorischen Reizbedingungen. Auch die weniger ausgeprägten Effekte, die bei größeren Konzentrationsunterschieden auftraten, könnten hierdurch erklärt werden: Derartige Unterschiede, die größere Zeitdifferenzen des Erregungseintritts zwischen beiden Seiten zur Folge hätten, scheinen unter natürlichen Verhältnissen nicht vorzukommen und werden daher als weniger eindeutig interpretiert.

Als neuronale Grundlage könnte man sich die bei Vertebraten offenbar generell vorhandenen interbulbaren Faserverbindungen vorstellen (Literaturangaben hz. s. Einleitung Elektro-

physiologie), die, wie von Levéteau und MacLeod (1969 b, c) nachgewiesen wurde, wechselseitig inhibitorische Einflüsse auf glomeruläre Potentiale ausüben, was zu einer Kontrastverschärfung der Erregungseingänge zwischen beiden Seiten des Riechorgans führen könnte. Hier sind dennoch viele Fragen offen.

Das hier vorgeschlagene Modell würde jedoch einer auf simultaner Differenzwahrnehmung beruhenden, tropotaktischen Wahrnehmungsweise unter Berücksichtigung der psychophysischen und neurophysiologischen Befunde und der olfaktorischen Reizsituation in befriedigender Weise Rechnung tragen.

4.4 ELEKTROPHYSIOLOGIE

Das Schwergewicht der vorliegenden Arbeit lag auf den biochemischen und verhaltensbiologischen Untersuchungen. Die elektrophysiologischen Versuche stellten einen relativ begrenzten Teilbereich der Arbeit dar und sollten daher nur als Grundlage für weiterführende Untersuchungen verstanden werden.

Die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

- die an 3 Plethodontidenarten beobachteten Antwortcharakteristika der sekundären Neurone der Riechbahn entsprachen den an anderen Wirbeltierarten gefundenen Antworteigenschaften von Bulbus-Neuronen,
- die quantitative Verteilung der einzelnen Antworttypen war von der Reizkonzentration, nicht jedoch von der Art des verwendeten Stimulus abhängig,
- zwischen Hydromantes italicus und Plethodon jordani zeigten sich unterschiedliche Verteilungen der Antworttypenhäufigkeiten; diese könnten auf ein bei Hydromantes zu vermutendes, empfindlicheres Geruchssystem zurückzuführen sein,
- bei kontralateraler Reizung wurden bei einem Teil der untersuchten Neurone Antworten beobachtet. Diese hatten oft beträchtliche Latenzzeiten.
- die Antworten waren bei kontralateraler Reizung generell erheblich schwächer als bei ipsilateraler Reizung,
- bei Plethodon jordani antworteten wesentlich mehr Neurone auf kontralaterale Reizung als bei Hydromantes italicus,
- ein deutlicher kontralateraler Einfluß auf die Aktivitätsmuster wurde jedoch bei Plethodon nur selten gefunden,
- bei Hydromantes antworteten bei kontralateraler Reizung weniger Zellen als bei Plethodon, die Beeinflussung der Aktivität durch ipsilateral Reizung war hier jedoch wesentlich stärker,
- die bei bilateraler Reizung erfolgende Verrechnung der Impulsmuster war hier entweder supraadditiv, additiv oder subadditiv.

4.4.1 Ipsilaterale Antworten

Ein Vergleich der vorliegenden Ergebnisse mit denen anderer Untersuchungen zeigt einige bemerkenswerte Übereinstimmungen aber auch deutliche Unterschiede auf (Literaturangaben hz. s. Einleitung / Elektrophysiologie).

Weitgehende Übereinstimmung bestand in Hinsicht auf die beobachteten Antworttypen. Generell scheinen die sekundären Neurone des olfaktorischen Systems der Wirbeltiere bei Geruchsreizung mit unterschiedlichen Mustern aus Hemmung und Erregung zu antworten. Diese Antwortmuster sind in vier oder - wenn man der Einteilung Kauers (1974) folgt - fünf Kategorien einzuordnen (s. a. Einleitung). Kauers (1974) Untersuchungen sind mit denen der vorliegenden Arbeit am ehesten vergleichbar und sollen daher hier besonders berücksichtigt werden. Kauer hatte bei Ableitungen an Bulbus-Neuronen von Rana pipiens und Ambystoma tigrinum festgestellt, daß alle Antworttypen bei jedem Neuron und jedem Tier in Abhängigkeit von dem jeweils verwendeten Geruchsreiz und der Konzentration des Geruchsstoffes auftreten können. Darüberhinaus schien die absolute, d.h. in der Summe vieler Ableitungen an verschiedenen Zellen beobachtete Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Antworttypen nicht von dem jeweils verwendeten Geruchsreiz abzuhängen, so daß gleichartige Verteilungen der Antworthäufigkeiten bei Reizung mit Geruchsstoffen unterschiedlicher Qualität, aber gleicher Intensität erwartet werden müssen.

Diese Beobachtungen konnten in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden. So wurden keine anderen als die erwähnten Antworttypen gefunden, und die Häufigkeitsverteilung der Antworttypen war besonders bei Hydromantes bei allen drei Stimuli sehr ähnlich. Bei Plethodon gilt dies zumindest für die Beutegerüche; Reizung mit dem synthetischen Geruchsstoff n-Hexanal hatte dagegen eine hiervon erheblich abweichende Charakteristik der Antworttypen zur Folge (s. Abb. 55), die jedoch auffallend der allgemeinen Verteilung bei Hydromantes glich.

Insgesamt gesehen zeigte sich hier - wenn man einmal von der Verteilung bei Reizung mit n-Hexanal absieht - ein beträchtlicher Unterschied in der Antwortcharakteristik der Zellen

von Plethodon und Hydromantes hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Antworttypen.

In diesem Zusammenhang ist ein Vergleich der prozentualen Anteile der einzelnen Antworttypen, wie sie von Kauer (1974) angegeben werden, mit denen der vorliegenden Untersuchung interessant. Hier ergaben sich erhebliche Unterschiede: So antworteten in Kauers Untersuchung 16 % der untersuchten Zellen mit einfacher Exzitation ((+)Antworttyp), insgesamt 24 % zeigten ein exzitatorisches Erregungsmuster mit nachfolgender Hemmung (E₂ und E₃-Typ = (+ -> -)Antwort i. d. vorl. Unters.), 19 % wurden inhibiert ((-)Antworttyp) und 27 % antworteten mit dem (- -> +)Antworttyp. 32 % der untersuchten Zellen antworteten bei gegebenem Geruchsstoff nicht. Diese über sämtliche Stimuli und 3 verschiedene Konzentrationen gemittelten Werte weichen - wie ein Vergleich mit den Zahlen in Tab. 2 deutlich macht - beträchtlich von denen der vorliegenden Untersuchung ab. Als Erklärung hierfür lassen sich mehrere Gründe nennen: So ist das zahlenmäßige Verhältnis von (+) zu (+ -> -)Typen offenbar in starkem Maße konzentrationsabhängig, wobei mit steigender Geruchsstoffkonzentration die (+ -> -)Antworten zunehmen und schließlich in (- -> +)Antworten übergehen, während andererseits die Anzahl der (+)Antworten abnimmt (Kauer und Sheperd, 1975) (s. hz. a. Einleitung / Elektrophysiologie und Mayr, 1982)¹. Bei Verwendung unterschiedlicher Konzentrationen bzw. Geruchsintensitäten sollten also durchaus unterschiedliche Antworttypenverteilungen auftreten können. Da in der vorliegenden Untersuchung jedoch die absoluten Konzentrationen nicht ermittelt wurden und außerdem andere Geruchsreize mit wahrscheinlich anderen Geruchsintensitäten verwendet wurden, läßt sich dieses nicht überprüfen. Zwar wird dieser Mangel in gewisser Weise dadurch ausgeglichen, daß die Werte in Kauers Untersuchung über drei Konzentra-

1) Dieser Sachverhalt wird auch aus den Kurvenverläufen in Abb. 55 sehr gut deutlich: Bei Reizung mit dem relativ hochkonzentrierten Geruchsstoff n-Hexanal traten hier stets die höchsten Prozentsätze von (+ -> -)Antworten auf; bei Hydromantes war darüberhinaus eine nicht unerhebliche Anzahl von (- -> +)Antworten zu beobachten.

tionsbereiche gemittelt wurden und in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls höhere und niedrigere Konzentrationen verwendet wurden. Dennoch ist eine direkte Vergleichbarkeit nicht gegeben, da eigentlich nur - dies folgt aus der oben beschriebenen Tatsache der konzentrationsabhängigen Verteilung der Antworttypen - Geruchsreize gleicher Intensitäten hinsichtlich ihrer Antwortcharakteristik exakt miteinander verglichen werden können. Das Vorhandensein gleicher oder ähnlicher chemischer Konzentrationen sagt hier wenig aus, da auch Geruchsstoffe mit gleicher Molekülkonzentration unterschiedliche Geruchsintensitäten haben können.

Auch die einfache Konstruktion des Olfaktometers könnte zu einer Beeinflussung der gemessenen Werte beigetragen haben, da sich hiermit bei Reizapplikationen auftretende Luftstöße nicht vermeiden ließen. Die mechanische Reizung des Riechepithels durch Luft- oder Wasserbewegungen kann jedoch einen erheblichen Einfluss auf die Spontanaktivitätsrate und damit auf das Antwortverhalten der Bulbus-Neurone haben (Ueki und Domino, 1961; Zippel und Breipohl, 1975). Dieses konnte auch in der vorliegenden Untersuchung beobachtet werden; so waren hier bei Reizung mit Luft aus einer vorher gereinigten Spritze, bei ansonsten unveränderten Bedingungen, häufig Antworten zu beobachten, die den bei Reizung mit Geruchsstoffen auftretenden glichen. Diese schienen jedoch bei Wiederholung relativ schnell zu adaptieren. Eine Beeinflussung der Antwortmuster durch mechanische Reize ist jedoch nicht auszuschließen und könnte der Grund für die hohe Anzahl antwortender Zellen gewesen sein.

Ein weiterer, vielleicht entscheidender Grund, für das Zustandekommen unterschiedlicher Werte ist jedoch in der Verwendung unterschiedlicher Tierarten zu sehen. Wenn man einmal davon ausgeht, daß die allgemeine Sensitivität gegenüber Geruchsreizen bei verschiedenen Arten unterschiedlich ist, so sollte sich dieser Sachverhalt in der Antworttypenverteilung der Bulbus-Neurone niederschlagen. Dies würde bedeuten, daß bei weniger empfindlichen Geruchssystemen und schwächerer Geruchsreizung überwiegend (+)Antworten zu beobachten sein sollten, während in einem empfindlicheren Geruchssystem bei gleicher Reizstärke höhere Anteile an

(+ -> -) und (- -> +)Antworten zu messen wären ¹. Genau dies scheint jedoch bei den olfaktorischen Systemen von Hydromantes und Plethodon der Fall zu sein, wie ein Vergleich der Antworthäufigkeiten in Abb. 55 deutlich macht. Dieser ist besonders aussagekräftig, da die Versuchsbedingungen hier identisch waren. Bei Plethodon sind (+)Antworten und bei Hydromantes (+ -> -) Antworten am stärksten vertreten. Der hier sichtbare Unterschied in der Verteilung der Antworthäufigkeiten könnte demnach auf unterschiedliche Sensitivitätsgrade der Geruchssysteme beider Arten zurückzuführen sein. Die bei Plethodon zu beobachtende Veränderung der Verteilung bei Reizung mit dem höher konzentrierten Geruchsstoff n-Hexanal würde gut in dieses Bild passen, da bei steigenden Geruchsstoffkonzentrationen eine Zunahme von (+ -> -)Antworten zu erwarten ist. Diese Zunahme ist - zumindest in der Tendenz - auch bei Hydromantes zu sehen. Möglicherweise ist hier jedoch schon eine Grenze erreicht, oberhalb derer eine weitere Zunahme der (+ -> -)Antworten wegen des Vorhandenseins von Adaptationsmechanismen nicht mehr möglich ist. Gleichzeitig könnte die geringe Anzahl rein inhibitorischer Antworten bei Plethodon auf ein weniger entwickeltes Unterscheidungsvermögen hindeuten. Zusammengefaßt hätte Hydromantes also einen empfindlichen Geruchssinn mit einem größeren Unterscheidungsvermögen als Plethodon. Zwar fehlt für diese Auffassung bisher der experimentelle, verhaltensbiologische Nachweis, jedoch würde die Tatsache einer höheren Empfindlichkeit des Geruchssystems bei Hydromantes gut mit dessen Lebensweise übereinstimmen (s. hz. Diskussion / Orientierungsverhalten)².

1) Der Grund für unterschiedliche Sensitivitätsgrade olfaktorischer Systeme könnte z.B. in einer mehr oder weniger großen Anzahl von Rezeptoren liegen. Bei gleicher Anzahl sekundärer Neurone würden hieraus unterschiedliche Konvergenzgrade und damit unterschiedliche Empfindlichkeiten resultieren (s. hz. van Drongelen et al., 1978).

2) siehe in diesem Zusammenhang auch die schon erwähnten histomorphologischen Befunde von Uva und Deplano (1983).

Insgesamt machen die Resultate des elektrophysiologischen Teils der vorliegenden Untersuchung trotz der erwähnten methodischen Mängel einige wichtige Prinzipien der Funktionsweise des Geruchssinnes deutlich: So ist es sicher richtig, davon auszugehen, daß die primäre Antwortkategorie der sekundären Neurone des olfaktorischen Systems exzitatorisch ist (Kauer, 1974). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen dies am Beispiel der Antworttypen bei Plethodon. Die bei steigender Geruchsstoffkonzentration einsetzende Inhibition und die daraus entstehenden Antwortmuster sind als Ergebnis neuronaler Verarbeitungsprozesse im Bulbus olfactorius zu verstehen und können nicht auf Rezeptorantwortmuster zurückgeführt werden, da diese sich von den Antwortmustern der sekundären Neurone in vieler Hinsicht erheblich unterscheiden (Gesteland, Lettvin, Pitts und Rojas, 1963; Shibuya und Shibuya, 1963; Takagi und Omura, 1963; Gesteland, Lettvin und Pitts, 1965). Der Sinn dieses neuronalen Verarbeitungsprozesses ist offenbar in erster Linie in einer Anpassung an unterschiedliche Geruchskonzentrationen zu sehen, daneben in einer Kontrastverschärfung. In diesem Zusammenhang sind auch die rein inhibitorischen Antworttypen interessant. Diese waren stets in einer geringen bis allenfalls mittleren Anzahl vorhanden und reagierten kaum auf Konzentrationsunterschiede (s. Abb. 55 und Tab. 2). Offenbar kommt hier ein inhibitorisches "Grundmuster" zum Ausdruck, welches der Kontrastverbesserung auch bei niedrigen Geruchsintensitäten dient und das bei steigenden Konzentrationen mit der Zunahme des inhibitorischen Charakters der (+) und (+ -) Antworttypen durch diese ergänzt wird.

In bezug auf die biologische Relevanz der in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Geruchsreize scheinen die Ergebnisse die schon in der Einleitung erwähnte Ansicht Kauers (1974) zu bestätigen, wonach es keinen Hinweis darauf gibt, daß bestimmte Antworttypen bei Reizung mit bestimmten Stimuli häufiger auftreten als bei anderen Geruchsreizen. Die durch biologisch relevante Geruchsreize hervorgerufenen Aktivitätsmuster werden danach nicht durch eine von anderen Geruchsreizen spezifisch unterschiedene Verteilung der Antworttypen repräsentiert; d.h. eine mögliche Verhaltensrelevanz eines Geruchs bei Ableitungen wird am Bulbus olfacto-

rius auf dem Einzelzellniveau nicht sichtbar. Dies war in der vorliegenden Untersuchung in der Tat der Fall (s. Verteilung d. Antworttypen b. Hydromantes). Bei stärkerer Berücksichtigung von Antwortintensitäten und Antwortveränderungen könnte man jedoch zu anderen Ergebnissen kommen. Hierzu wäre jedoch eine wesentlich exaktere Stimuluskontrolle notwendig, als dies in der vorliegenden Untersuchung der Fall war. Insbesondere müßten dann Stimuli mit vergleichbaren Geruchsintensitäten verwendet werden. Insofern könnte sich der aus der oben geäußerten Ansicht entstehende Widerspruch zu den Ergebnissen anderer Untersuchungen (Literaturhz. s. Einleitung / Elektrophysiologie) - bei denen bei Reizung mit biologisch relevanten Gerüchen andere Aktivitätsmuster aufgetreten waren als bei nicht relevanten Stimuli - als nicht vorhanden erweisen.

4.4.2 Kontralaterale Antworten

Bei kontralateraler Reizung waren deutliche Antworten von Neuronen des ipsilateralen Bulbus zu beobachten waren. Dies stellt ein wesentliches Ergebnis der elektrophysiologischen Untersuchungen dar. Die bei kontralateraler Reizung auftretenden Antworten unterschieden sich jedoch von den ipsilateralen Antworten in mehrfacher Hinsicht: Zwar waren hier grundsätzlich die gleichen Antworttypen wie bei ipsilateraler Reizung zu beobachten gewesen, was auf gleichartige Reizverarbeitungsmechanismen schließen läßt, die Häufigkeitsverteilung der Antworttypen sowie das Verhalten gegenüber Konzentrationsänderungen wichen jedoch von der ipsilateralen Antwortcharakteristik ab. So war einerseits der Anteil der rein inhibitorischen Antworten sowohl bei Plethodon als auch bei Hydromantes höher als bei ipsilateraler Reizung¹, andererseits schien die Reizkonzentration kaum einen Einfluß auf die Antworttypenverteilung zu haben. Dies wird an der Häufigkeit des (+ -> -)Antworttyps bei Plethodon

1) Dies würde mit den Beobachtungen anderer Autoren in gewisser Weise übereinstimmen, obwohl dort der Anteil inhibitorischer Antworten noch erheblich größer war (Lit. Angaben s. Einleitung / Elektrophysiologie).

besonders gut deutlich; der zu erwartende Anstieg der Häufigkeit bei Reizung mit n-Hexanal blieb hier aus (s. Abb. 56 u. Tab. 3).

Der schon bei ipsilateraler Reizung festgestellte Unterschied in der Antwortcharakteristik zwischen Plethodon und Hydromantes zeigte sich auch bei kontralateraler Reizung. Während dort jedoch die Antwortverteilungen der einzelnen Stimuli bei Plethodon stärker voneinander abwichen als bei Hydromantes, war dies bei kontralateraler Stimulation umgekehrt (s. Abb. 55 u. 56). Weiterhin fiel bei Hydromantes ein starkes Überwiegen des (+)Antworttyps bei Reizung mit Grillengeruch auf (s. Tab. 3). Dies könnte Anlaß zu Spekulationen über die mögliche biologische Bedeutung dieses Geruchs für Hydromantes geben. Hierbei ist jedoch immer die gerade bei Hydromantes äußerst geringe Anzahl kontralateraler Antworten zu berücksichtigen. Zufälligkeiten sind daher nicht auszuschließen.

Bei Betrachtung sämtlicher Antwortmuster beider Arten (s. hz. a. Abb. 57 - 69) wird jedoch eine unterschiedliche Bedeutung der kontralateralen Einflüsse sichtbar: Während bei Plethodon die kontralateralen Verbindungen bis auf wenige Ausnahmen (s. z. B. Abb. 67), wenig oder keinen Einfluß auf die bilaterale Antwortcharakteristik hatten, waren diese Einflüsse bei Hydromantes wesentlich ausgeprägter (s. z.B. Abb. 64 u. 65). Auch der Antwortstärkenvergleich in Tab. 4 zeigt dies sehr deutlich. Darüberhinaus wurden bei den kontralateralen Antworten von Hydromantes fast ausschließlich große Spikes mit längerer Dauer (3 msec.) und niedriger Spontanaktivitätsrate beobachtet, was darauf schließen läßt, daß es sich hierbei um Mitralzellantworten handelte (Phillips et al., 1963). Bei Plethodon wurden demgegenüber bei einer insgesamt höheren Antwortrate (s. a. Abb. 52 - 54) verhältnismäßig mehr kontralaterale Antworten mit niedrigen Impulsamplituden und höheren Spontanaktivitätsraten beobachtet, wobei es sich offenbar um Büschelzellantworten handelte. Bei Plethodon ist also offensichtlich eine größere Anzahl interbulbärer Verbindungen vorhanden, die jedoch einen insgesamt eher geringen Einfluß auf das Antwortverhalten der

sekundären Neurone haben, während bei Hydromantes wenige Verbindungen einen erheblichen Einfluß ausüben.

Eine funktionelle Bedeutung interbulbarer Projektionen scheint in mehrfacher Hinsicht gegeben zu sein:

1. Interbulbare Verbindungen könnten von erheblicher Bedeutung bei der Richtungswahrnehmung von Geruchsreizen sein (s. Einleitung).

Eindeutige Richtungseffekte sollten hierbei jedoch nur dann auftreten, wenn der kontralaterale Einfluß überwiegend inhibitorisch ist (Levéteau und MacLeod, 1969 b, c). Dies konnte jedoch in der vorliegenden Untersuchung nicht beobachtet werden. Die kontralateralen Antwortmuster waren im Gegenteil überwiegend exzitatorisch (s. Abb. 56). Hierbei waren die bei bilateraler Reizung auftretenden Antwortstärken - wie auch der Vergleich in Tab. 4 zeigt - bei Plethodon eher subadditiv, während bei Hydromantes wesentlich mehr überadditive Antworten zu beobachten waren. Das Fehlen von Effekten, die auf einen Mechanismus zur Richtungsorientierung hätten schließen lassen, könnte hier auf die Art und Weise der Reizapplikation zurückzuführen sein. So haben rein unilaterale Reizsituationen, wie sie bei den vorliegenden Untersuchungen bei kontralateraler Reizung auftraten, offenbar keinen Richtungseffekt (Lit. hz. s. Einleitung). Eine systematische Untersuchung derartiger Phänomene hätte daher eine genau definierte, bilateral unterschiedlich abgestufte Reizapplikation erfordert. Dieses konnte jedoch in der vorliegenden Untersuchung aus technischen Gründen nicht durchgeführt werden.

2. Interaktionen beider Seiten des olfaktorischen Systems könnten eine bilaterale Summation von Geruchsintensitäten bewirken.

Bilaterale Summation von Geruchsintensitäten sind in psychophysischen Untersuchungen an Menschen (Elsberg, 1935; Cain, 1977) mehrfach nachgewiesen worden. Bennett (1968) stellte bei Ratten nach Durchtrennung der anterioren Kommissur eine Schwellenanhebung gegenüber Geruchsreizen fest. Die Ergebnisse der genannten Untersuchungen sind jedoch nicht unumstritten (Slotnick und Schoonover, 1984). In der vorliegenden Untersuchung konnten nur bei Hydromantes Antwortei-

enschaften beobachtet werden, die auf eine bilaterale Summation hinweisen könnten (s. Tab. 4).

3. Kontralaterale Einflüsse sind offenbar an Adaptionerscheinungen beteiligt.

Hierfür sprechen die Ergebnisse der Untersuchungen von Elsborg (1935) und Cain (1977), bei denen ipsilaterale Stimulation auf der kontralateralen Seite die zur Wahrnehmung notwendige Schwellenkonzentration erhöht war. Auf diesen Sachverhalt wurde in der vorliegenden Untersuchung jedoch nicht eingegangen.

4. Interbulbare Verbindungen könnten der Übermittlung von Erregungsmustern zwischen beiden Seiten des olfaktorischen Systems dienen.

Die Untersuchung von Bennett (1971), bei denen bei unilateral gereizten Ratten die Lern- und Unterscheidungsleistungen gegenüber Gerüchen herabgesetzt waren, unterstützten die Ansicht, daß die olfaktorische Reizverarbeitung mindestens teilweise auf der Integration von Reizmustern beider Riechepithelia beruht. Hierbei ist an eine topographische Organisation der vermittelnden Faserverbindungen zu denken. Diese konnten in der Tat bei Säugern nachgewiesen werden (Schoenfeld und Macrides, 1984). Falls bei Salamandern die topographische Organisation des olfaktorischen Systems (Mackay-Sim et al., 1982; Mackay-Sim und Shaman, 1984; Jastreboff et al., 1984) auch bei den interbulbaren Projektionen gewahrt bliebe, so wäre auch hier ein effektiver Mechanismus zur Reizmusterverstärkung vorhanden. Die in der vorliegenden Untersuchung besonders an Hydromantes erzielten Ergebnisse, bei denen ein bestimmter Prozentsatz der untersuchten Neurone bei bilateraler Reizung stark überadditiv antwortete, lassen dies naheliegend erscheinen.

Der auch in anderer Beziehung beobachtete Unterschied der Eigenschaften der olfaktorischen Systeme von Plethodon und Hydromantes kam auch hier wieder zum Ausdruck. Es ist in diesem Zusammenhang interessant, daß gerade Hydromantes - auf dessen besondere Anpassung an olfaktorische Reizbedingungen schon hingewiesen wurde - neben einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber Geruchsreizen (s. Diskussion 4.4.1), offenbar einen wirksamen Mechanismus zur Erhöhung der Riechschärfe verfügt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. BIOCHEMISCHER TEIL

1.1 GC / MS-Analyse

- es konnte nachgewiesen werden, daß der untersuchte Beutegeruch aus einer größeren Anzahl chemischer Verbindungen bestand;
- diese bildeten bei der gaschromatographischen Analyse ein charakteristisches Peakmuster, das über einen längeren Beobachtungszeitraum konstant blieb;
- bei den durch kombinierte GC/MS-Analyse identifizierten Verbindungen handelte es sich neben 2-Heptanon und 2-Pentyl-Furan um eine Reihe niedermolekularer, gradkettiger Aldehyde im Bereich von C_3 - C_7 ;
- die gefundenen Aldehyde waren die Hauptkomponenten des untersuchten Gemisches.

1.2 Verhaltenswirksamkeit der Proben

- die gaschromatographisch untersuchten Proben hatten hohe, mittlere und geringe Verhaltenswirksamkeiten;
- die Peakmuster der Gaschromatogramme korrelierten hierbei mit der jeweiligen Verhaltenswirksamkeit, wobei diese umso höher war je mehr sich die Probenpeakmuster der Peakverteilung in GFP-Chromatogrammen annäherten;
- auch sehr geringe Peakmusteränderungen hatten nachweisbare Verhaltensveränderungen zur Folge.

2. VERHALTENSBIOLOGISCHER TEIL

2.1 Lernverhalten

- ein neuer Beutegeruch wurde schon nach ein- bis zweimaliger Erfahrung gelernt;
- das Lernen von Beutegerüchen scheint bei Feuersalamandern an eine sensible Phase gebunden zu sein, diese dauert bis mindestens ein Jahr nach der Metamorphose;
- neben Beutegerüchen die gelernt werden, gibt es solche deren Kenntnis offenbar angeboren ist;
- die Befunde unterstreichen die besondere Lernfähigkeit des olfaktorischen Systems.

2.2 Orientierungsverhalten

- das Suchen einer Geruchsbeute erfolgte nach dem Prinzip von Versuch und Irrtum sowie
- aufgrund simultaner Differenzwahrnehmung beider Seiten des Geruchsorgans (Tropotaxis);
- bei der Annäherung an die Beute waren pendelnde Suchbewegungen zu beobachten gewesen. Hierbei könnte es sich um eine dem Beutefang bei Dunkelheit angepaßte Verhaltensweise oder um eine klinotaktische Komponente des Suchablaufes handeln;
- eine für den olfaktorischen Beutefang von Salamandern typische Verhaltensweise - die Witterstellung - scheint von erheblicher Bedeutung für die Orientierung im Nahbereich der Beute zu sein;
- das Auftreten der genannten Verhaltensweisen war abhängig von der jeweiligen Reizsituation.

3. ELEKTROPHYSIOLOGIE

- die an 3 Plethodontidenarten beobachteten Antwortcharakteristika der sekundären Neurone der Riechbahn entsprachen den an anderen Wirbeltierarten gefundenen Antworteigenschaften von Bulbus-Neuronen;
- die quantitative Verteilung der einzelnen Antworttypen war von der Reizkonzentration, nicht jedoch von der Art des verwendeten Stimulus abhängig;
- zwischen Hydromantes italicus und Plethodon jordani zeigten sich unterschiedliche Verteilungen der Antworttypenhäufigkeiten; diese könnten auf ein bei Hydromantes zu vermutendes, empfindlicheres Geruchssystem zurückzuführen sein;
- bei kontralateraler Reizung wurden bei einem Teil der untersuchten Neurone Antworten beobachtet. Diese hatten oft beträchtliche Latenzzeiten;
- die Antworten waren bei kontralateraler Reizung generell erheblich schwächer als bei ipsilateraler Reizung;
- bei Plethodon jordani antworteten wesentlich mehr Neurone auf kontralaterale Reizung als bei Hydromantes italicus,
- ein deutlicher kontralateraler Einfluß auf die Aktivitätsmuster wurde jedoch bei Plethodon nur selten gefunden;
- bei Hydromantes antworteten bei kontralateraler Reizung weniger Zellen als bei Plethodon, die Beeinflussung der Aktivität durch ipsilaterale Reizung war hier jedoch wesentlich stärker;
- die bei bilateraler Reizung erfolgende Verrechnung der Impulsmuster war hier entweder supraadditiv, additiv oder subadditiv.

VI. LITERATUR

Apfelbach, R. (1978):

A sensitive phase for the development of olfactory preferences in ferrets (*Mustela putorius furo* L.). Z. Säugetierkde., 43: 289 - 295

Adrian, E. D. (1950):

The electrical activity of the mammalian olfactory bulb. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 2: 377 - 388

Adrian, E. D. (1953):

Sensory messages and sensation. The response of the olfactory organ to different smells. Acta physiol. scand. 22: 5 - 14

Andres, K. H. (1970):

Anatomy and ultrastructure of the olfactory bulb in fish, amphibia, reptiles, birds and mammals. In: Taste and Smell in Vertebrates, ed. Wolstenholme, G. E. and Knight, J., London: Churchill

Amoore, J. E. (1964):

Current status of the steric theory of odor. Ann. N.Y. Acad. Sc. 116: 457-476

Arnold, S. J. (1977):

The evolution of courtship behaviour in new world salamander with some comments on old world salamanders. In: Taylor, D.H. und Guttman, S. J. (eds.): The Reproductive Biology of Amphibians. Plenum Press. New York

Arnold, S. J. und Houck, L. D. (1982):

Courtship pheromones: Evolution by natural and sexual selection. In: Nitecki, M.H. (ed.): Biochemical aspect of evolutionary biology. Chicago university press, Chicago

Barthalmus, G.T., Bellis E.D. (1972):

Home range, homing and the homing mechanism of the salamander, *Desmognathus fuscus*. Copeia 1972 (632- 647)

Becker, R. (1980):

Verhaltensbiologische Untersuchungen des olfaktorisch und visuell gesteuerten Beutefangverhaltens juveniler Feuersalamander (*Salamandra salamandra* L.), Dipl.-Arbeit, Universität Bremen

Békésy, G. von (1964):

Olfactory analogue to directional hearing J. appl. Physiol. 12: 369-373

Bennett, M.H. (1968):

The role of the anterior limb of the anterior commissure in olfaction. Physiol. Behav. 3: 507 - 515

Bennett, M.H. (1971):

Effects of asymmetrical mucosal stimulation upon two-odor discrimination in the rat. Physiol. Behav. 2 (3): 301-306

- Bodznick, D. (1978):
Characterization of olfactory bulb units of sockeye salmon with behaviorally relevant stimuli. *J. comp. Physiol.* 122: 147 - 155
- Broadwell, R. D. (1975a):
Olfactory relationship of the telencephalon and diencephalon in the rabbit. I. An autoradiographic study of the efferent connections of the main and accessory olfactory bulbs. *J. comp. Neurol.*, 163: 329 - 346
- Burghardt, G. M. (1966):
Stimulus control of the prey attack response in naive garter snakes. *Psychon. Sci.* 4: 37 - 38
- Burghardt, G. M. u. Pruitt, C. H. (1977):
Role of the tongue and senses in feeding of naive and experienced garter snakes. *Physiol. & Behav.* 14: 185 - 194
- Callens, M. u. N. Boisacq-Schepens (1963):
Tonic depressive influences on the olfactory bulb by the contralateral olfactory bulb and by central nervous system structures. *Arch. int. Physiol. Biochim.* 71: 621 - 623
- Cain, W. S. (1977):
Bilateral interaktion in olfaction. *Nature*, 268: 50 - 52
- Cattarelli, M. u. Chaneil, J. (1979):
Influence of some biologically meaningful odorants on the vigilance states of the rat. *Physiol. Behav.* 23: 831 - 838
- Cattarelli, M., Pager, J. u. Chaneil, J. (1977):
Modulation des réponses multiunitaires du bulbe olfactif et de l'activité respiratoire en fonction de la signification des odeurs chez le rat non contraint. *J. Physiol. (Paris)*, 23: 963 - 984
- Chaput, M. u. Holley, A. (1980):
Single unit responses of olfactory bulb neurones to odour presentation in awake rabbits. *J. Physiol. (Paris)*: 26: 551 - 558
- Döving, K. B. (1963):
Studies of the relation between the frog's electro-olfactogram (EOG) and single unit activity in the olfactory bulb. *Acta physiol. scand.* 60: 150 - 163
- Döving, K. B. (1966 b):
Analysis of odour similarities from electrophysiological data. *Acta physiol. scand.* 68: 404 - 418
- Döving, K. B. (1966 c):
An electrophysiological study of odour similarities of homologous substances. *J. Physiol.* 186: 97 - 106
- Döving, K. B. u. Gemne, G. (1966):
An electrophysiological study of the efferent olfactory system in the burbot. *J. Neurophysiol.* 29: 665 - 674

- Döving, K. B. u. Hyvärinen, J. (1968):
Afferent and efferent influences on the activity pattern of single olfactory neurons. *Acta physiol. scand.* 25: 111 - 123
- Döving, K. B., Nordeng, H. u. Oakley, B. (1974):
Single unit discrimination of fish odours released by char (*Salmo alpinus* L.) populations. *Comp. Biochem. Physiol.* 47A: 1051 - 1063
- Duchamp, A. (1982):
Electro physiological responses of olfactory bulb neurons to odour stimuli in the frog. A comparison with receptor cells. *Chemical senses* 7 (2): 191 - 210
- David, R. S. und Jaeger, R. G. (1981):
Prey location through chemical cues by a terrestrial salamander. *Copeia* 1981 29: 435 - 440
- Dole, J. W., Rose, B. B. u. Tachiki, K. H. (1981):
Western toads (*Bufo boreas*) learn odor of prey insect. *Herpetologica* 37 (1): 63 - 68
- van Drongelen, W.; Holley, A. und Döving, K. B. (1978):
Convergence in the olfactory system: Quantitative aspects of odour sensitivity. *J. theor. Biol.* 71: 39 - 48
- Elsberg, C.A. (1935):
The sense of smell VIII: Olfactory fatigue. *Bull. N.Y. Neurol. Inst.* 4: 479 - 495
- Elsberg, C.A. (1935):
The sense of smell IX: Monorhinal, birhinal and bisynchronous rhinal smell. *Bull. N.Y. Neurol. Inst.* 4: 469 - 500
- Engen, T.; Kuisma, J. und Eimas, P. (1973):
Short term memory of odors. *J. Exp. Psychol.* 99: 222 - 225
- Engen, T. und Ross, B. (1973):
Long term memory of odors with and without verbal descriptions. *J. Exp. Psychol.* 100: 221 - 227
- Ewert, J. P. (1976):
Neuro-Ethologie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Fraenkel, G. S. u. Gunn, D. C. (1961):
The Orientation of Animals. Dover Publication Inc., New York
- Freeman, W. J. (1978 a):
Spatial properties of an EEG event in the olfactory bulb and cortex. *Electroencephal. u. Chin. Neurophysiol.* 44: 586 - 605
- Freeman, W. J. (1978 b):
Spatial frequency analysis of an EEG event in the olfactory bulb. In D. A. Otto (Ed.), *Multidisciplinary perspectives in event-related brain potential research*. Washington, D. C.: U. S. Government Printing Office EPA-600/9-77-043: 533 - 542

- Freeman, W. J. (1979):
EEG analysis gives model of neuronal template-matching mechanism for sensory search with olfactory bulb. *Biological Cybernetics*, 35: 221 - 234
- Freeman, W. J. u. Schneider, W. (1982):
Changes in spatial patterns of rabbit olfactory EEG with conditioning to odors. *Psychophysiol.* 19 (1): 44 - 56
- Freeman, W. J. (1983):
The physiological basis of mental images. *Biological Psychiatry*, 18 (10): 1107 - 1125
- Forester, D. C. (1979):
Homing to the nest by female mountain dusky salamanders *Desmognathus ochrophaeus* with comments on the sensory modalities essential to clutch recognition. *Herpetologica* 35 (4): 335 - 338
- Gertz, W. (1938):
Geruchsdressuren und Reizschwellenbestimmungen an Tritonen. *Z. Vergl. Physiol.* 25: 389 - 426
- Gesteland, R. C.; Lettvin, J.; Pitts, W. und Rojas, A. (1963):
Odour specificities of the frog olfactory receptors. In: *Olfaction and Taste I*, ed. Zotterman, Y., PP. 19 - 34. Oxford: Pergamon Press
- Gesteland, R. C.; Lettvin, J. u. Pitts, W. (1965):
Chemical transmission in the nose of the frog. *J. Physiol.* 181: 525 - 559
- Grant, D., Anderson, D. u. Twitty, V. (1968):
Homing orientation by olfaction in newts (*Taricha rivularis*). *Science* 160: 1354 - 1356
- Grassman, A. A., Owens, D. W., Mc Vey, J. P. u. Marquez, R. (1984):
Olfactory-based orientation in artificially imprinted sea turtles. *Science*, 224: 83 - 84
- Green, J. D. (1961):
Patterned responses in second order neurons of the olfactory bulb. *Science*. 134: 1429
- Gruberg, E. R. u. Ambros, V. R. (1974):
A forebrain visual projection in the frog (*Rana pipiens*). *Exp. Neurol.* 44 187 - 197
- Haberly, L. B. u. Price, J. C. (1978):
Association and commissural fiber systems of the olfactory cortex of the rabbit. II. Systems originating in the olfactory peduncle. *J. comp. Neur.*, 181: 781 - 808
- Hachenberg, H., Schmidt, A. P. (1977):
Gaschromatographic headspace analysis. Heyden, London

- Halpern, M. u. Frumin, N. (1980):
Roles of the vomeronasal and olfactory systems in prey attack and feeding in adult garter snakes. *Physiol. & Behav.* 24: 367 - 371
- Halpern, D. M., Schulman, N., Scribani, L. u. Kirschenbaum, D. M. (1984):
Characterization of vomeronasally-mediated response-eliciting components of earthworm wash-II. *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, 21: 655 - 662
- Hara, T. J. (1967):
Electrophysiological studies of the olfactory system of the goldfish. *Carassius auratus* L. II. Response patterns of the olfactory bulb neurons to chemical stimulation and their centrifugal control. *Comp. Biochem. Physiol.* 22: 199 - 208
- Herrick, C. J. (1924):
The amphibian forebrain. II. The olfactory bulb of *Amblystoma*, *J. comp. Neurol.*, 32: 373 - 396
- Hershey, J. L., Forester, D. C. (1980)
Sensory orientation in *Notophtalmus viridescens viridescens*, *Amphibia, Salamandridae*. *Can. J. Zool.* 58 (2): 266 - 276
- Himstedt, W. (1967):
Experimentelle Analyse der optischen Sinnesleistungen im Beutefangverhalten der einheimischen Urodelen. *Zool. Jb. Physiol.* 73: 281 - 320
- Jaeger, R. G. u. Gergits, F. W. (1979):
Intra- and interspecific communication in salamanders through chemical signals on the substrate. *Anim. Behav.* 27: 150 - 156
- Jastreboff, P. J.; Pedersen, P. E.; Greer, C.A.; Stewart, W.B.; Kauer, J.S.; Benson, T.E. und Sheperd, G.M. (1984):
Specific olfactory receptor populations projecting to identified glomeruli in the rat olfactory bulb. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 5250 - 5254
- Kauer, J. S. (1974):
Response patterns of amphibian olfactory bulb neurones to odour stimulation. *J. Physiol.* 243: 695 - 715
- Kauer, J. S. u. Moulton, D. G. (1974):
Responses of olfactory bulb neurons to odour stimulation of small nasal areas in the salamander. *J. Physiol.* 243: 717 - 737
- Kauer, J. S. u. Sheperd, G. M. (1975):
Mechanism for processing of odour concentration in salamander olfactory bulb neurones. *J. Physiol.* 252: P 49 - 50
- Kauer, J. S. u. Sheperd, G. M. (1977):
Analysis of the onset phase of olfactory bulb unit responses to odour pulses in the salamander. *J. Physiol.* 272: 495 - 516

- Kerr, D. I. B. u. Hagbarth, K. E. (1955):
An investigation of the olfactory centrifugal fibre system.
J. Neurophysiol. 18: 362 - 374
- Kleerekoper, H. (1967):
Some aspects of olfaction in fishes, with special references
to orientation. Am. Zool. 7: 385 - 395
- Kolb, B. (Ed.) (1980):
Applied headspace gas chromatography. Heyden, London
- Kramer, G. (1933):
Untersuchungen über die Sinnesleistungen und das Orientierungsverhalten von Xenopus laevis Daud. Zool. Jahrb. Abt. Physiol. 52: 629 - 676
- Laing, D. G., Panhuber, H., Willcox, M. E. u. Pittman E. A. (1984):
Quality and intensity of binary odor mixtures. Physiol. & Behav. 33: 309 - 319
- Langley, W. M. (1984):
Recognition of prey species by their odors in the grasshopper mouse (Onychomys leucogaster). Behav. Process., 9: 277 - 280
- Lawless, H. T. und Cain, W. S. (1975):
Recognition memory of odors. Chem. Sens. Flav. 1: 331 - 377
- Leveteau, J. u. MacLeod, P. (1969 b):
Reciprocal inhibition of glomerular level during bilateral olfactory stimulation. In: C. Pfaffmann (Ed.), Olfaction and taste III: 212 - 215. New York, Rockefeller University Press.
- Leveteau, J. u. MacLeod, P. (1969 c):
La discrimination latérale en olfaction. Physiol. and Behav. 4: 479 - 482
- Lindquist, S. B. u. Bachmann, M. D. (1982):
The role of visual and olfactory cues in the prey catching behaviour of the tiger salamander, Ambystoma tigrinum. Coepeia 1982: 81 - 90
- MacLeod, P. (1971):
Structure and function of higher olfactory centers. In: L. M. Beidler. (Ed.) Handbook of Sensory Physiology. Vol. IV Chemical senses. Part 1. Berlin, Heidelberg, New York.
- Mackay-Sim, A.; Shaman, P. und Moulton, D.G. (1982):
Topographic coding of olfactory quality: Odorant-specific patterns of epithelia responsivity in the salamander. J. Neurophysiol. 48 (2): 585 - 596
- Mackay-Sim, A. und Shaman, P. (1984):
Topographic coding of odorant quality is maintained at different concentrations in the salamander olfactory epithelium. Brain Res. 292: 207-216

- Macrides, F. u. Chorover, S. L. (1972):
Olfactory bulb units: Activity correlated with inhalation cycles and odour quality. Science 175: 84 - 87
- Mc. Gavin, M. (1978):
Recognition of conspecific odors by the salamander Plethodon cinereus. Copeia 1978 (2): 356 - 358
- Mair, R. G. (1982 a):
Response properties of rat olfactory bulb neurones. J. Physiol. 326: 341 - 359
- Mancia, M., Baumgarten, R. v. u. Green, J. D. (1962):
Response patterns of olfactory bulb neurones. Arch. ital. Biol. 100: 449 - 462
- Madison, D. M., u. Shoop, C. R. (1969):
Homing behavior, orientation and home range of salamanders tagged with Tantalum-18. Science 168: 1484 - 1487
- Madison, D. M. (1975):
Intraspecific odor preferences between salamanders of the same sex: dependence on season and proximity of residence. Can. J. Zool. 53: 1356 - 1361
- Margolis, S. E. (1976):
Influence of olfactory stimuli on the efficiency of visual stimuli in the behavior of newts (Iriturus vulgaris, Iriturus cristatus). Zool. ZH. 55: 1201 - 1205
- Margolis, S. E. (1977):
Role of non-visual reception in the prey catching behavior in Iriturus vulgaris, Iriturus cristatus. Zool. ZH. 56: 1826 - 1833
- Mathews, D. F. (1972 a):
Response patterns of single units in the olfactory bulb of the rat to odor. Brain Res. 42: 389 - 400
- Mathews, D. F. (1972 b):
Response patterns of single neurones in the tortoise olfactory epithelium and olfactory bulb. J. Gen. Physiol. 60: 166 - 180
- Matthes, E. (1924 a):
Das Geruchsvermögen von Iriton beim Aufenthalt im Wasser. Z. Vgl. Physiol. 1: 57 - 83
- Matthes, E. (1924 b):
Das Geruchsvermögen von Iriton beim Aufenthalt an Land. Z. Vgl. Physiol. 1: 590 - 606
- Matthes, E. (1924 c):
Die Rolle des Gesichts-, Geruchs- und Erschütterungssinnes für den Nahrungserwerb von Iriton. Biol. Zentralblatt 44: 72 - 78
- Mori, K., Satou, M. u. Takagi, S. F. (1979):
Axonal projection of anterior olfactory nuclear neurons to the olfactory bulb bilaterally. Exp. Neurol. 64: 295 - 305

Müller-Schwarze, D. und Mozell, M. M., eds.: (1977):
Chemical signals in vertebrates. Plenum Press, New York,
London

Neuhaus, W. (1956):

Die Riechschwelle von Duftgemischen beim Hund und ihr Verhältnis zu den Schwellen unvermischter Duftstoffe. Z. vgl. Physiol. 38: 238 - 258

Nicholas, J. S. (1922):

The reactions of Amblystoma tigrinum to olfactory stimuli. J. Exp. Zool. 35: 257 - 281

Nigrosh, B. J.; Slotnick, B. M. und Nevin, J. A. (1975):

Olfactory discrimination, reversal learning, and stimulus control in the rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 89: 285 - 294

Northcutt, R. G. u. Royce, G. J. (1975):

Olfactory bulb projections in the bull frog Rana catesbeiana. J. Morph. 145: 251 - 268

Northcutt, R.G. (1981):

Evolution of the telecephalon in non-mamals. Ann. Rev. Neurosci. 4: 301 - 350

Olmos, D., Hardy, H. u. Heimer, L. (1978):

The afferent connections of the main and accessory olfactory bulb formations in the rat: An experimental HRP-study. J. comp. Neurol. 181: 213 - 244

Orrego, F. (1962):

The reptilian forebrain. III. Cross connections between the olfactory bulbs and the cortical areas in the turtle. Arch. ital. Biol. 100: 1 - 16

Papi, F. (1976):

The olfactory navigation systems of the homing pigeon. Verhandl. Zool. Gesellsch. 69:
184 - 205

Papi, F. (1982 a):

Olfaction and homing in pigeons: Ten years of experiments. In: F. Papi und H. G. Wallraff (Eds.) Avian navigation. Springer-Verlag, Berlin

Papi, F.; Fiore, L.; Fiaschi, V. u. Benvenuti, S. (1971):

The influence of olfactory nerve section on the homing capacity of carrier pigeons. Mon. Zool. Ital. (N.S.) 5: 265 - 267

Papi, F.; Fiore, L.; Fiaschi, V. u. Benvenuti, S. (1972):

Olfaction and homing in pigeons. Mon. Zool. Ital. (N.S.) 6: 85 - 95

Phillips, G. G.; Powell, T. P. S. u. Sheperd, G. M. (1963):

Response of mitral cells to stimulation of the lateral olfactory tract in the rabbit. J. Physiol. (Lond.) 168: 65 - 88

Reformato, L. S., Kirschenbaum, D. M. u. Halpern, M. (1983): Preliminary characterization of response-eliciting components of earth worm extrakt. Pharmacol. Biochem. Behav. 18: 247 - 254

Roth, G. (1976):

Experimental analysis of the prey catching behavior of Hyalinobatrachium italicum Dunn (Amphibia, Plethodontidae). J. comp. Physiol. 102: 47 - 58

Roth, G. u. Luthardt, G. (1980):

The role of early sensory experience in the prey catching responses of Salamandra atra (L.) to stationary prey. Z. Tierpsychol. 52: 141 - 148

Rottluff, B. (1985):

Vergleichende morphometrische Untersuchungen an Gehirnen von lungenlosen Salamandern der Familie Plethodontidae. Dipl.-Arbeit, Universität Bremen

Scalia, F., Halpern, M. u. Riss, W. (1969):

Olfactory bulb projections in the South American caiman. Brain Behav. Evol. 2: 238 - 262

Sheldon, R. E. (1912):

The olfactory tracts and centers in teleost. J. comp. Neurol. 22: 177 - 339

Shepard, R. N. (1967):

Recognition memory for words, sentences and pictures. J. Verb. Learn. Verb. Behav. 6: 156 - 163

Shepherd, G. M. (1972):

Synaptic organization of the mammalian olfactory bulb. Physiol. Rev. 52: 864 - 917

Shibuya, T.; Ai, N. u. Takagi, S. F. (1962):

Response types of single cells in the olfactory bulb. Proc. Japan Acad. 38: 231 - 233

Shibuya, T. u. Shibuya, S. (1963):

Olfactory epithelium: Unitary responses in the tortoise. Science, N. Y. 140: 495 - 496

Shinn, E. A., Dole, J. W. (1979):

Lipid components of prey odors elicit feeding responses in Western toads (Bufo boreas). Copeia 1979, 2: 275 - 278

Schoenfeld, T. A. u. Macrides, F. (1984):

Topographic organization of connections between the main olfactory bulb and pars externa of the anterior olfactory nucleus in the hamster. J. comp. Neurol., 227: 121 - 135

Skramlik, E. v. (1925)

Über die Lokalisation der Empfindungen bei den niederen Sinnen. Z. Sinnesphysiol. 36: 69 - 140

Slootnick, B. M. und Katz, H. M. (1974):

Olfactory learning-set formation in rats. Science (Wash.), 208: 753 - 755

Slotnick, B. M. (1984):
Olfactory stimulus control in the rat. Chem. Sens., 2 (2)
: 157 - 165

Slotnick, B.M. und Schoonover, F.W. (1984):
Olfactory thresholds in unilaterally bulbectomized rats.
Chem. Sens. 2 (4): 325 - 340

Stabell, O. B. (1984):
Homing and olfaction in salmonids: A critical review with
special reference to the atlantic salmon. Biological
Rev., 59: 333 - 388

Takagi, S. F. u. Omura, K. (1963):
Responses of the olfactory receptor cells to odours. Proc.
Japan Acad. 39: 253 - 255

Teichmann, H. (1959):
Über die Leistungen des Geruchssinnes beim Aal (Anguilla
anguilla) (L.). Z. vgl. Physiol. 42: 206 - 254

Tristram, D. A. (1977):
Intraspecific olfactory communication in the terrestrial
salamander Plethodon cinereus. Copeia 1977: 597 - 600

Twitty, V. C. (1955):
Field experiments on the biology and genetic relationship of
the california species of Iriturus. J. exp. Zool. 129: 129 -
147

Ueki, S. u. Domino, E. F. (1961):
Some evidence for a mechanical receptor in olfactory func-
tion. J. Neurophysiol. 24: 12 - 25

Ulinski, P. S. u. Peterson, E. H. (1981):
Patterns of olfactory projections in the desert iguana,
Dipsosaurus dorsalis. J. Morph. 168: 189 - 227

Wallraff, H. G. (1970):
Weitere Volierenversuche mit Brieftauben: Wahrscheinlicher
Einfluß dynamischer Faktoren der Atmosphäre auf die Orien-
tierung. Z. vgl. Physiol. 68 182 - 201

Walsh, R. R. (1956):
Single cell spike activity in the olfactory bulb. Am. J.
Physiol. 186: 225 - 257

Walsh, R. R. (1959):
Olfactory bulb potentials evoked by electrical stimulation
of the contralateral bulb. Am. J. Physiol. 196: 327 - 329

Wilde, W. S. (1938):
The role of Jacobson's organ in the feeding reaction of the
common garter snake, Thamnophis sirtalis sirtalis (Linn.).
J. Exp. Zool. 77: 445 - 465

Wisby, W. J. u. Hasler, A. D. (1954):
Effect of olfactory occlusion on migrating silver salmon
(Onchorhynchus kisutch). Journal of the Fisheries Research
Board of Canada 11: 472 - 478

Zippel, H. P. u. Breipohl, W. (1975):
Functions of the olfactory system in the goldfish (Carassius
auratus). In: Olfaction and taste, Vol. V (eds. D. A. Den-
ton, J. P. Coghlan), PP. 163 - 167. New York: Academic Press

Nachtrag

Teile dieser Arbeit wurden bereits publiziert:

Beckery, R. (1984):

Beutegeruchserkennung bei Salamandern (Salamandra salaman-
dra L.)

Eine verhaltensbiologische und gaschromatographische Unter-
suchung.

Verh. Dtsch. Zool. Ges. 77: 272

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. G. Roth danke ich für die Anregung und Förderung dieser Arbeit.

